Aus der Abteilung für Zahnerhaltung
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. Dr. P. Riethe
des Zentrums für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Universität Tübingen

ZUR ELUATION VON METALL-IONEN AUS DENTAL-AMALGAMEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde
der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt
von
Harald Barth
aus
Reutlingen
1984

UNIV.
LIBRARY
KIEL

Aus der Abteilung für Zahnerhaltung
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. Dr. P. Riethe
des Zentrums für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Universität Tübingen

ZUR ELUATION VON METALL-IONEN AUS DENTAL-AMALGAMEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde
der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt
von
Harald Barth
aus
Reutlingen
1984

Dekan: Professor Dr. D. Plester

1. Berichterstatter: Professor Dr. G. Schmalz
2. Berichterstatter: Professor Dr. Dr. R. Schmelzle

Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG 2

2. LITERATURÜBERSICHT 3

2.1 Aufnahme und Ausscheidung des Körpers von durch Korrosion freigewordenen Amalgambestandteilen 3

2.2 Elektrochemische Untersuchungen über das Korrosionsverhalten von Amalgamen 5

2.3 Untersuchungen zum Einfluß mechanischer Faktoren 6

2.4 Untersuchungen zur Löslichkeit verschiedener Amalgambestandteile 7

2.5 Meßmethoden 8

2.5.1 Photometrie 8

2.5.2 Röntgenfluoreszenz 8

2.5.3 Polarographie 9

2.5.3.1 Elektroden 10

2.5.3.2 Entstehung des Polarogramms 11

2.5.3.3 Verwendetes Verfahren 12

2.5.4 Atomabsorptionsspektrophotometrie 13

3. FRAGESTELLUNG 16

4. MATERIAL UND METHODE 17

4.1 Materialien 17

4.2 Herstellung der Prüfkörper 17

4.2.1 Herstellung der Proben mit dem einfachen Probenformer für Handbedienung 17

4.2.2 Probenherstellung mit dem automatischen Former 18

4.3 Herstellung des Lösungsmittels 19

4.4 Eluation 19

4.5 Meßmethoden 20

4.5.1 Polarographie 20

4.5.1.1 Geräte und Reagenzien 20

4.5.1.2 Vorbereitung des Polarographen 20

4.5.1.3 Messung am Polarographen 21
4.5.1.4 Mengenbestimmung durch Standardaddition 22
4.5.1.5 Aufschluß des proteinhaltigen Mediums für die Messung mit dem Polarographen 22
4.5.1.6 Bestimmung von Kupfer, Zinn und Cadmium 23
4.5.1.7 Bestimmung von Zink 24
4.5.2 Atomabsorptionsmethode (CRA) 25
4.5.2.1 Allgemeines zur Bedienung 25
4.5.2.2 Bestimmung von Kupfer 26
4.5.2.2.1 Herstellung der Eichlösung 26
4.5.2.2.2 Erstellung der Eichkurve 27
4.5.2.2.3 Einspritzen der Proben 27
4.5.2.2.4 Geräteeinstellung für die Cu-Messung 28
4.5.2.3 Bestimmung von Zink 28
4.5.2.3.1 Geräteeinstellung für die Zn-Messung 28
4.5.2.4 Bestimmung von Silber 29
4.5.2.4.1 Geräteeinstellung für die AG-Messung 29
4.5.2.5 Bestimmung von Cadmium 30
4.5.2.5.1 Herstellung der Meßproben und Eichkurve 30
4.5.2.5.2 Geräteeinstellung für die Cd-Messung 31
4.5.3 Quecksilbermessung im Kaltdampfverfahren 32
4.5.3.1 Herstellung der Eichkurve 32
4.5.3.2 Probenvorbereitung für die Messung 33
4.5.3.3 Eichung mit Probenmedium 34
4.5.4 Messungen am Flammen-AAS 35
4.5.4.1 Allgemeines 35
4.5.4.2 Geräteeinstellungen für die Messungen im proteinhaltigen Medium 36

5. AUSWERTUNG 38
5.1 Allgemeines 38
5.2 Umrechnung der Ergebnisse auf 1 cm² Oberfläche 38
5.3 Berechnung der Mittelwerte aus den Meßergebnissen 39

6. ERGEBNISSE 40
6.1 Cadmium 40
6.2 Zink 40
6.3 Silber 41
6.4 Kuper 41
6.5 Quecksilber 42
6.6 Zinn 42
6.7 Einfluß der Liegezeit 42
6.8 Einfluß der Probenherstellung 43

7. DISKUSSION 44
7.1 Prüfkörperherstellung 44
7.2 Lösungsmittel 45
7.3 Meßverfahren 46
7.3.1 Polarographie 46
7.3.2 Atomabsorptionsspektrophotometrie mit Graphitrohrküvette 48
7.3.3 Atomabsorptionsspektrophotometrie am Flammen-AAS 49
7.3.4 Atomabsorptionsspektrophotometrie im Kaltdampfverfahren 50
7.3.5 Vergleichende Bewertung 50
7.4 Einfluß der Liegezeit 51
7.5 Einfluß der Proteinkonzentration 52
7.6 Ergebnisse 52

8. ZUSAMMENFASSUNG 54

9. TABELLEN 55
10. ABBILDUNGEN 63
11. LITERATURVERZEICHNIS 74

1. EINLEITUNG

Amalgam ist heute der meistverwendete Füllungswerkstoff in der zahnärztlichen Praxis für das Seitenzahngebiet. Mechanische Eigenschaften sowie Gewebeverträglichkeit dieses Materials waren daher Gegenstand vielfältiger Untersuchungen.
Vor allem dem toxischen Schwermetall Quecksilber wurde in seiner Wirkung und seinem Verhalten auch in der Öffentlichkeit starke Beachtung geschenkt. Seltener dagegen wurden die übrigen Bestandteile des Amalgams, nämlich Kupfer, Zink, Zinn und Silber hinsichtlich ihres Eluationsverhaltens im feucht-warmen Milieu der Mundhöhle untersucht. Dabei dürfte neben der Schwierigkeit, in vitro mundhöhlenähnliche Verhältnisse herzustellen, auch die Problematik des geeigneten Meßverfahrens eine Rolle gespielt haben.
Ziel der vorliegenden Arbeit war deshalb, sowohl das Eluationsverhalten aller Bestandteile des Amalgams zu testen als auch das für die einzelnen Ionen günstigste Meßverfahren zu ermitteln.

2. LITERATUROBERSICHT

Die meisten bisher durchgeführten Arbeiten über das Korrosionsverhalten von Dentalamalgamen befaßten sich in vitro mit entstehenden elektrochemischen Vorgängen. Seltener dagegen wurde das Eluationsverhalten einzelner Bestandteile des Amalgams überprüft, wobei wegen seiner Toxizität meist das Schwermetall Quecksilber im Vordergrund stand.
Diese Untersuchungen wurden sowohl in vitro als auch in vivo durchgeführt.
Bei allen in vitro Versuchen bestand das Problem der Simulation mundähnlicher Verhältnisse. Die Wahl einer geeigneten Eluationsflüssigkeit, deren pH-Wert, die Mundtemperatur, das Zusammentreffen verschiedener Metall-Legierungen in der Mundhöhle, sowie der Einfluß mechanischer Faktoren auf die Füllungen waren Gegenstand vielfältiger Untersuchungen. Alle Korrosionsvorgänge müssen dabei als multifaktorielles Geschehen betrachtet werden.

Zur besseren Übersicht jedoch sollen die einzelnen Untersuchungen zum Korrosionsverhalten der Amalgame wie folgt unterteilt werden:

1.) Aufnahme und Ausscheidung des Körpers von durch Korrosion freigewordenen Amalgambestandteilen.
2.) Elektrochemische Untersuchungen über das Korrosionsverhalten von Amalgamen.
3.) Untersuchungen zum Einfluß mechanischer Faktoren.
4.) Untersuchungen zur Löslichkeit verschiedener Amalgambestandteile.

2.1 Aufnahme und Ausscheidung des Körpers von durch Korrosion freigewordenen Amalgambestandteilen.

VIALA et. al. (56) haben einer Versuchsperson alle alten Amalgamfüllungen (Gesamtmenge 2 g) entfernt und nach 30 Tagen durch

neue ersetzt. Der mit dem flammenlosen AAS* bestimmte Quecksilber- und Silbergehalt in Blut und Urin nahm sowohl beim Entfernen der alten Füllungen, als auch bei der Applikation der neuen nach 2 bis 3 Tagen zu. Nach 8 bis 10 Tagen wurde der Ausgangswert wieder erreicht. Die maximalen Werte lagen für Hg bei 25 µg/l (Urin), 8 µg/l (Blut) und 90 µg/l (Speichel). Beim Silber lagen diese Werte bei 18 µg/l (Urin),3,4 µg/l (Blut) und bei 93 µg/l (Speichel) jeweils 2 bis 3 Tage nach Legen der neuen Füllungen.

SCHNEIDER (51) untersuchte vor und nach dem Legen von Amalgam-Füllungen Hg im Urin von 23 Patienten mit dem flammenlosen AAS. Die im Tagesurin gefundenen Werte betrugen vor Legen der Füllungen 1,2 µg HG, danach stiegen die Werte zwischen dem 2. und 4. Tag auf ein durchschnittliches Maximum von 8,8 µg an, um 8 bis 10 Tage nach Applikation der Füllungen wieder Ihren Ausgangswert zu erreichen.

Die Quecksilberausscheidung in Urin und Stuhl, sowie die Hg-Speicherung in Organen prüfte I.BÖNIG (3) mit radïoaktivem Hg^{203} an Versuchstieren. Die gemessenen Höchstmengen waren im Stuhl 17150 µg und im Urin 340 µg. Sowohl in der Niere (77 µg/g) als auch in Leber (27,5 µg/g) und Milz (7,0 µg/g) war Hg gespeichert. Durch Kaubelastung herausgebrochene Füllungsteilchen hatten die Ergebnisse jedoch erhöht.

KÖHL (31) konnte durch Quecksilberdampfdruck-Messungen nachweisen, daß die toxische Hg-Dampf-Konzentration (1 mg/Tag) nicht erreicht wird. Im Trockenen erreichte Kupfer-Amalgam 0,17 mg, Silber-Zinn-Amalgam 0,005 mg. Nachdem die Füllungen mit künstlichem Speichel überdeckt waren, sank der Wert für Kupferamalgam auf 0,002 mg, während der Wert für Silber-Zinn-Amalgame unterhalb der Nachweisgrenze lag.

BABENERDE et al. (1) konnten mittels radioaktivem Hg^{203} an Hundezähnen kein Eindringen von Quecksilber in die Dentinkanälchen nachweisen. Ferner stellte er fest, daß 80% der Hg-Menge die nach dem Legen einer Füllung frei wird, in den ersten 8 bis

---

* Atomabsorptionsspektrophotometer

10 Tagen an den Speichel abgegeben und über die Niere ausgeschieden wird.
Nach dem Legen frischer dreiflächiger Amalgamfüllungen beträgt die zusätzliche Hg-Belastung des Organismus nicht mehr als 50% des ohnehin mit der Nahrung aufgenommenen Quecksilbers von 7,6 µg (KROPP 28).
KRÖNCKE et al. (27) untersuchte mit Hilfe der flammenlosen Atomabsorptionsspektroskopie die Hg-Konzentrationen im Harn und im Blut von 102 Personen mit und ohne Amalgamfüllungen. Die mittlere Hg-Ausscheidung betrug 1,54 µg/l bei Personen ohne, 1,66 µg/l bei solchen mit Amalgamfüllungen. Die entsprechenden Blutwerte waren 1,04 und 1,17 µg Hg/g. Eine unterschiedliche Hg-Belastung läßt sich daraus nicht ableiten.
Nach dem Legen von 4 bis 5 Füllungen wies FRYKHOLM (15) einen Anstieg der Hg-Ausscheidung im Urin auf 2,5 µg/l nach, jedoch kam es innerhalb von 8 Tagen zu einem Abfall auf nicht mehr meßbare Werte.
Nach KROPP (28) werden bei täglich zweimaligem Zähneputzen 0,4 bis 0,9 µg Hg/cm² abgegeben.

2.2 Elektrochemische Untersuchungen über das Korrosionsverhalten von Amalgamen

Korrosionsströme kommen einerseits durch Lokalelemente zustande, die durch den heterogenen Gefügeaufbau der Amalgame bedingt sind, zum anderen durch Kontaktelemente zwischen zwei verschiedenen Metallegierungen, meist zwischen Amalgam und Gold, wobei das Füllungsamalgam als Anode wirkt (14). Durch die Ausbildung einer Passivierungsschicht auf der Metalloberfläche kommt dieser Vorgang jedoch zum Stillstand. Die Passivierungsschichten können durch mechanische Insulte zerstört oder beseitigt werden, regenerieren sich jedoch schnell (15, 35, 55).
WANG CHEN (60) untersuchte die Korrosionsströme zwischen Gold und Amalgam (105 µA), sowie zwischen verschiedenen Amalgamen (54 µA zwischen Aristalloy und Dispersalloy) in Ringer-Lösung,

ohne direkte Berührung der Metalle.
Die Frage, welchen Einfluß unterschiedliche Flüssigkeiten auf die Korrosionsströme haben, wurde mehrfach untersucht. BARON (2) verglich Ringer-Lösung und künstlichen Speichel. Die Korrosionsströme, als Funktion der Zeit aufgezeichnet, nahmen mit der Zeit ab, wobei unterschiedliche Werte für Ringer Lactat (1,33 bis 1,18 µA), für Ringer-Lösung (0,41 bis 0,38 µA) und künstlichen Speichel (3,23 bis 1,70 µA) festgestellt wurden.
ONOSE et al. (43) gelang der Nachweis, daß Korrosionsströme, die durch Reduktion von Zinn-Oxid entstehen, mit Zunahme bakterieller Flora aus Streptococcus mutans ansteigen. Eine Abhängigkeit sowohl vom pH-Wert als auch von der Kaubelastung weisen WAGNER und TILL (59) nach. Bei zunehmendem pH sinkt die Spannung ab (pH 3,2/-630 mV, pH 6,8/430 mV). Ebenso nimmt die Spannung mit zunehmender Liegedauer ab (-630 mV nach 48h auf -570 mV). Während bei einer unbelasteten Kaufläche die Spannung innerhalb 48h um 40% abnimmt, beträgt die Abnahme unter Kaubelastung nur ca. 9%.
TODOROV (53) wies nach, daß die Löslichkeit von Silberionen im Speichel gleichzeitig mit dem Korrosionspotential ansteigt (bei -268 mV $1{,}8 \times 10^{-5}$%; bei -644 mV $7{,}32 \times 10^{-5}$%).
LUKAS (34, 35) gibt zwischen zwei Zähnen in der Mundhöhle ohne Kontakt eine Spannung von 1 bis 3 mV und einen Strom von 0,06 µA, bei direktem Kontakt für Sekundenbruchteile sogar Kurzschlußströme bis 100 µA an, allerdings nur solange sich noch keine Passivierungsschicht gebildet hat.
Diese Passivierungsschicht wird durch (OH^-)- und Metallionen an der Füllungsoberfläche gebildet und erschwert das Inlösung gehen neuer Metallionen.

2.3 Untersuchungen zum Einfluß mechanischer Faktoren

Quecksilbergehalt und Porosität von Amalgamfüllungen sind abhängig vom Stopfdruck (6).
WAGNER und TILL (59) wiesen durch polarographische Messungen

nach, daß die in Lösung gegangenen Bestandteile aus Amalgamfüllungen, die mechanisch gegeneinander bewegt wurden, größer sind als beim unbelasteten Zahn. Die Werte stiegen bei Sn von 3,4 auf 6,0 µg/ml, bei Zn von 1,9 auf 2,6 µg/ml und bei Cu von 0 auf 0,2 µg/ml.
Wie bereits erwähnt, sank auch das Korrosionspotential in den ersten 48 Std. bei den belasteten Füllungen nur um 9% anstelle 40% bei den unbelasteten (59).
Die durch mechanischen Abrieb nach dem Zähneputzen frei werdende Quecksilbermenge beträgt zwischen 0,4 und 0,9 µg/cm² (28).

2.4 Untersuchungen zur Löslichkeit verschiedener Amalgambestandteile

Bei den meisten Untersuchungen dieser Art steht das Quecksilber im Vordergrund. MAYER und DIEHL (40) untersuchten mit dem flammenlosen AAS die Abgabe von Quecksilber im menschlichen und künstlichen Speichel, sowie in Kochsalz- und Ringer-Lösung. Sie konnten dabei keine signifikanten Unterschiede gegenüber destilliertem Wasser feststellen.
Sie fanden in den ersten 24 Std. 2,7 µg/cm² (Cupromuc), bzw. 2,5 µg/cm² Hg (Standalloy). Nach 10 Tagen waren die Werte auf 0,06 µg/cm² und Tag abgesunken.
SCHLESIGER (50) fand in den ersten 24 Std. 3,6 µg (Cupromuc), 2,0 µg (Standalloy) bzw. 0,77 µg Hg (A-76). Am 10. Tag fand er noch 0,016 µg bei Cupromuc und weniger als 0,01 µg bei den beiden Silberamalgamen (alle Werte bezogen auf 1cm²).
Auch nach BABENERDE (1), der mit radioaktivem Hg^{203} arbeitete, waren bereits nach 10 Stunden 80% der Gesamtmenge Hg, die nach 400 Std. 23 bis 32 µg beträgt (=100%), in Lösung gegangen.
TODOROV (53) untersuchte den Speichel von 20 Patienten auf Silberionen und stellte je nach Zustand der Amalgamfüllungen Werte zwischen $1{,}8 \times 10^{-5}$ bis $7{,}22 \times 10^{-4}$% fest. pH-Wert und mechanische Belastung haben ebenfalls einen Einfluß auf die Menge eluierter Metallionen. So stieg für Sn der Wert von 3,4 µg/ml bei pH 6,9 auf 5,0 µg/ml bei pH 3,0 entsprechend bei Cu von 1,9 µg/ml auf

5,6 µg/ml. Nach mechanischer Belastung stiegen die Werte bei Sn von 3,4 µg/ml auf 5,0 µg/ml bei Zn von 1,9 µg/ml auf 2,6 µg/ml. Die Werte für Kupfer, Silber und Quecksilber lagen erst nach Belastung im meßbaren Bereich (52, 59).
In einem Medium mit menschlichen Epithelzellen konnte LEIRSKAR (32) nach 24 Std. 14 µg/ml aus Silberamalgam eluiertes Zink nachweisen. Kupfer- und Zinnwerte konnten nicht gemessen werden. Beim Kupferamalgam wurden 100 µg/ml Kupfer und 5 µg/ml Cadmium gemessen.
Einen Einfluß von Serum Albumin, in geringerem Umfang auch von Fibrinogen auf das Korrosionsverhalten von Metallpulvern aus Cr, Ni, Co und Cu wiesen CLARK und WILLIAMS (8) nach.

2.5 Meßmethoden

Metallspuren im ppm-Bereich können durch verschiedene Analysenverfahren bestimmt werden.

2.5.1 Photometrie

Die Photometrie ist geeignet zur Metallspurenanalyse bis in den ppm-Bereich. Das Prinzip besteht in der Komplexierung von Metallionen mit organischen Substanzen, wodurch eine Farbänderung entsteht. Die Messung erfolgt im sichtbaren Bereich (26).
Das Verfahren ist wenig selektiv und erfordert für die Probenvorbereitung viel Arbeit (26).

2.5.2 Röntgenfluoreszenz

Auch das Röntgenfluoreszenzverfahren ist geeignet zur Metallspurenanalyse bis in den ppm-Bereich.
Alle Atome ab der Ordnungszahl 19 können mit Röntgenstrahlen zur Fluoreszenz angeregt werden. Die Fluoreszenzstrahlung ist für jedes Element charakteristisch und kann deshalb bestimmt werden (26).
Dieses Verfahren ist stark matrixabhängig, erfordert einen hohen apparativen Aufwand und ist bei Spurenanalysen nicht

sehr genau (26).

2.5.3 Polarographie

Unter Polarographie versteht man die Messung von Strom-Spannungskurven an der tropfenden Quecksilberelektrode (41). Die theoretischen Grundlagen für dieses Verfahren lieferte bereits NERNST (42), aber erst die Einführung der Quecksilberelektrode durch HEYROWSKY im Jahre 1922 ermöglichte den Einsatz der Methode als Standard-Messverfahren (20, 41, 42).

Mit der Polarographie steht uns ein elektrochemisches Analysenverfahren zur Verfügung, mit dem Art und Menge von Stoffen in Lösungen bestimmt werden können. Hierzu wird eine mit der Zeit monoton zu- oder abnehmende Gleichspannung an eine Meßzelle gelegt. Der sich einstellende Diffusionsstrom wird als Funktion der angelegten Spannung bestimmt. Die sich daraus ergebende Kurve nennt man ein Polarogramm.

An der Elektrodenoberfläche besteht ein Übergangsbereich zwischen der Elektrolytlösung mit den gelösten Substanzen (Depolarisatoren) und der Elektrode. Die hier herrschenden Aktivitäten der oxidierten und reduzierten Formen der Depolarisatoren können mit der Nernst-Gleichung wiedergegeben werden:

$$E = E_o + \frac{RT}{zF} \ln \frac{a_{Ox}}{a_{Red}}$$

E = Normalpot. des Redoxpaares F = Faradaykonstante
R^o= Gaskonstante T = Temperatur, z = Zahl der bewegten Elektronen

Wenn die Konzentration sehr klein ist und dadurch Störfaktoren des umgebenden Mediums auf das Ergebnis praktisch keinen Einfluß mehr haben, kann man vereinfachen. Es gilt dann bei T = 25° C, daß Aktivitäten gleich Konzentrationen seien *).

*) pers.Mitt.Dr.Schoknecht, Inst.f.Arb.Medizin,Tübingen

Es folgt daraus für E in Volt:

$$E = E_0 + \frac{0{,}059}{z} \lg \frac{(Ox)}{(Red)}$$

Verändert man das an der Arbeitselektrode liegende Potential, so ändert man damit auch das Konzentrationsverhältnis von oxidierter und reduzierter Form des Depolarisators, was mit einem Elektronentransport verknüpft ist, der als Strom i (= z x e^-) gemessen werden kann.

$$Ox + z\, e^- \longleftrightarrows Red$$

Die Meßzelle besteht aus mindestens zwei Elektroden, die in die Meßlösung eintauchen, nämlich der Arbeits- und der Bezugselektrode. Neuerdings wird zusätzlich eine Hilfselektrode verwendet.

2.5.3.1 Die Elektroden

Als Arbeitselektrode wurde die tropfende Quecksilberelektrode verwendet. Ein sich ständig erneuernder Quecksilbertropfen bildet sich aus einer Glaskapillare heraus bis zum Erreichen einer bestimmten Größe und fällt dann ab. Durch das völlig gleichmäßige Abtropfen des reinen Quecksilbers ist gewährleistet, daß der elektrochemische Prozeß an einer dauernd erneuerten, reinen, immer gleich beschaffenen Oberfläche abläuft. Durch die ständige Erneuerung der Oberfläche ist die Stromstärke von der Dauer der Elektrolyse unabhängig. Quecksilber leitet elektrischen Strom gut und Verunreinigungen können äußerst gering gehalten werden, da es leicht zu reinigen ist.
Die hohe Wasserstoffüberspannung am Quecksilber macht es möglich, sehr negative Potentiale ohne störende Wasserstoffentwicklung zu erhalten. In wässrigen Lösungen kann man mit der Quecksilbertropfelektrode Elektrodenprozesse im Potentialbereich von +4,0 V bis -2,6 V messen. Bei höheren Potentialen geht das Quecksilber anodisch in Lösung, bei niedrigeren Potentialen als -2,6 V werden das Wasser

oder das verwendete Lösungsmittel zersetzt. Diese Grenzwerte hängen stark vom verwendeten Grundelektrolyten ab.

Als Bezugselektrode diente eine Silber-/Silberchlorid-Elektrode mit Zwischenlösung. Diese Bezugselektrode soll während der elektrochemischen Vorgänge ein konstantes Potential behalten, damit dort keine chemischen Veränderungen stattfinden. Man verwendet daher eine relativ großflächige Bezugselektrode mit geringem Innenwiderstand. Diese behält bei niederen Strombelastungen ein nahezu konstantes Potential. In sogenannten kritischen Lösungsmitteln (stark sauer oder stark alkalisch) soll diese Bezugselektrode immer mit Zwischenlösung verwendet werden. Hierzu diente ein Frittengefäß mit einer gut leitenden Salzlösung (KCl).
Einen störenden Einfluß kann ein durch den Stromfluß bedingter Spannungsverlust eines hohen Elektrolytwiderstandes ausüben. Das Potential der Bezugselektrode ist nicht mehr konstant. Deshalb fügt man hier eine Hilfselektrode hinzu. Diese nimmt den gesamten Polarographierstrom auf. Die Bezugselektrode wird dadurch von keinem, ihr Potential beeinflussenden Strom mehr durchflossen, und das Potential der Arbeitselektrode kann nun auf diese unveränderliche Bezugselektrode bezogen werden.

2.5.3.2 Entstehung eines Polarogramms

Eine mit der Zeit monoton zunehmende Gleichspannung wird an die Meßzelle gelegt. Der an der Arbeitselektrode entstehende Strom i wird im Strom-Spannungs-Diagramm aufgezeichnet. Dieses verläuft stufenförmig vom Grundstrom i_o bis zum Diffusionsgrenzstrom i_d. Das Halbstufenpotential $E_{1/2}$ im Umkehrpunkt auf halber Stufenhöhe hat für jeden Stoff eine charakteristische Größe, während die Höhe der Stufe, also der Diffusionsgrenzstrom i_d proportional zu der Depolarisatormenge ist (Abb. 1a).
Diese Gleichstrompolarographie kann man verfeinern, indem der Gleichspannungsrampe eine kleine, niederfrequente Wech-

selspannung überlagert wird (Abb. 1b). Dadurch erhält man im Bereich der Stufe große, davor und dahinter kleine Stromwerte. So erhält man beim Halbstufenpotential $E_{1/2}$ anstelle der Stufe wesentlich besser auswertbare Peaks, deren Lage mit der Peakspitze auf dem Halbstufenpotential stoffspezifisch und deren Höhe konzentrationsabhängig ist. Mit diesem Verfahren, der Wechselstrompolarographie, erhält man eine wesentlich bessere Trennung benachbarter Stufen als in der Gleichstrompolarographie.

2.5.3.3 Verwendetes Verfahren

Eine weitere Verbesserung stellt die Pulspolarographie dar. Empfindlichkeit und Trennschärfe werden weiter verbessert, indem bei der Pulspolarographie an jeden Quecksilbertropfen nur ein einzelner, kurzer Rechteck-Spannungspuls an die Meßzelle gelegt wird, dessen Amplitude durch die monoton zunehmende Gleichspannung bestimmt wird. Zwischen den Pulsen geht die Polarographiespannung immer wieder auf die Pulsbasisspannung zurück, die anodischer oder kathodischer als das Halbstufenpotential $E_{1/2}$ ist. Deshalb findet weder eine Oxidation noch eine Reduktion statt, so daß die Tropfenumgebung nicht verarmt. Die Strommessung selbst wird im letzten Tropfenabschnitt vorgenommen (letzte 20 msec), um störende Kapazitätsstromanteile auszuschalten.
Während eines Meßdurchganges durchläuft der Polarograph einen einstellbaren Spannungsbereich dU ausgehend von der Ausgangsspannung U. Je nach Grundelektrolyt kann man anhand der Lage der Peaks im Polarogramm Stoffe analytisch bestimmen, da deren Halbstufenpotential charakteristisch ist. Die zugehörige Spannung kann man entweder aus dem Polarogramm festlegen oder an dem dafür vorgesehenen Anzeigeninstrument des Polarographen ablesen. Die Menge kann durch die Standard-Additionsmethode (s.u.) über die Peakhöhe ermittelt werden.

2.5.4 Atomabsorptionsmethode

Das Prinzip der Atomabsorptionsmethode besteht darin, daß Elektronen der Atome eines bestimmten Elementes durch Photonen einer Strahlung auf ein höheres Energieniveau gehoben werden und der Intensitätsverlust der ursprünglichen Strahlung gemessen wird (49).

Diese Methode wird erstmals von KIRCHHOFF und BUNSEN in den Jahren 1860 und 1861 erwähnt (4).

Bei diesem Analyseverfahren wird eine Metallsalzlösung stark erhitzt, wodurch es zur Dissoziation der ursprünglich eingeführten Verbindung kommt und freie Atome entstehen. Diese befinden sich in der Mehrzahl im nicht angeregten Zustand, dem Grundzustand.

Diese freien Atome werden mit einer Hohlkathodenlampe bestrahlt. Die Hohlkathodenlampe besteht aus einem Glas- oder Quarzzylinder, in dessen Grundplatte die Kathoden- und Anodendurchführung eingeschweißt ist. Die Kathode besteht in der Regel aus dem zu bestimmenden Element, die Anode meist aus Wolfram. Das Lichtaustrittsfenster ist fast immer aus Quarz und mit der Lampe verschweißt.

Die Lampe ist evakuiert und mit einem Edelgas, meist Argon oder Neon gefüllt.

Legt man nun Spannung an die Elektroden, so wird das Edelgas durch die Anode ionisiert und diese Ionen schlagen bei ihrem Aufprall auf die Kathode aus deren Oberfläche Metallatome heraus. Der so entstehende Atomdampf wird durch Kollision mit freien Atomen des Edelgases angeregt und es entsteht ein für das Element charakteristisches Spektrum. Dieses Licht wird am Ende des Strahlenganges von einem Photomultiplier wieder aufgefangen, welcher einen Photostrom erzeugt, der letztlich verstärkt und gemessen wird.

Um Störungen durch das bei der Atomisierung der Meßlösung entstehende Licht zu vermeiden, wird in den Strahlengang ein Zerhacker eingebaut. Dieser besteht aus Metallflügeln, die sich propellerartig drehen, so daß das Licht der Hohlkathodenlampe

in einem bestimmten Rhythmus verdeckt und freigegeben wird, über Magnetschalter wird diese Frequenz auf den Photomultiplier übertragen, so daß dieser nur noch das Licht der Hohlkathodenlampe mißt. Im Strahlengang befindet sich ferner ein Monochromator, mit dem eine geeignete Spektrallinie ausgesucht wird. In diesen Strahlengang wird nun die durch das Erhitzen der Metallsalzlösung entstandene Atomwolke geleitet.

Elektronen können in ihren Orbitalen auf ein höheres Energieniveau gehoben werden, indem man ihnen Wärmeenergie oder Lichtenergie in Form von Lichtquanten, den Photonen, zuführt. Dies bewirken die Photonen des Lichtes der Hohlkathodenlampe. Mit genau gleicher Energie und Schwingungszahl können diese die Elektronen der Atome in einen entsprechend höheren Energiezustand bringen. Dabei wird zum Erreichen des höheren Energiezustandes die eingestrahlte Energie vom entsprechenden Atom quantitativ aufgenommen und nach einer kurzen Verweilzeit unverändert wieder abgegeben, d.h. das Elektron kehrt auf sein ursprüngliches Energieniveau zurück. Die Schwächung der ursprünglich beobachteten Intensität der anregenden Spektrallinie kann man nur deshalb wahrnehmen, weil das wieder entstehende Licht nun nicht mehr gerichtet ist, sondern in alle Richtungen ausgestrahlt wird. Am Photomultiplier kommt demnach weniger Licht an als beim ungestörten Strahlengang.

Diese Lichtschwächung wächst mit der Anzahl der absorbierenden Atome und ist daher ein Maß für die Konzentration des gesuchten Stoffes.

Atomabsorptionsspektrophotometer (AAS) gibt es in verschiedenen Varianten. Die Systeme unterscheiden sich in der Methode, die zur Atomisierung angewendet wird. Zum einen kann dafür eine sehr heiße Gasflamme verwendet werden, es handelt sich dann um ein Flammen-AAS. Beim flammenlosen AAS wird zur Atomisierung eine heizbare Graphitrohr-Küvette verwendet. Die elktrische Beheizung erfolgt über zwei Elektroden, die ebenfalls aus Graphit hergestellt sind. Bei dieser Variante handelt es sich um ein AAS mit Graphitrohr-Küvette oder Carbon-rod-atomizer (CRA).

Bei der dritten Variante wird die Atomisierung über eine chemische Reaktion herbeigeführt. Dieses Verfahren benützt man zur

Bestimmung von Quecksilber. Dabei wird das Quecksilber gasförmig mittels chemischer Reaktion ohne Temperatur in die Meßzelle geleitet. Dies wird als Kaltdampfverfahren bezeichnet. Erstmals erwähnt wird dieses Verfahren im Jahre 1968 durch W.R.HATCH und W.L.OTT (18).

3. FRAGESTELLUNG

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung wurden folgende Fragen bearbeitet:

1.) Welche und wieviele Metallionen verschiedener Amalgame gehen in Lösung?

2.) Welche Rolle spielt die Liegezeit der angemischten Amalgame vor der Eluation?

3.) Welchen Einfluß hat die Proteinkonzentration im Lösungsmittel auf die Eluation?

4.) Welchen Einfluß hat die Art der Prüfkörperherstellung auf die Eluation?

5.) Wie können Metallverunreinigungen bei Aufschluß, Probenherstellung und Messung vermieden werden?

6.) Welche Meßverfahren eignen sich am besten zur Bestimmung eluierter Metalle?

4. MATERIAL UND METHODE

4.1 Materialien

Geprüft wurden fünf verschiedene Amalgame (Tab. 1). Um zu gewährleisten, daß stets das optimale Mischungsverhältnis erreicht wird, wurden Kapselamalgame verwendet. Nur Cupromuc, das in Tablettenform vorlag, wurde unverändert in die Testlösung gegeben, da hier das fertige Mischungsverhältnis bereits in der Rohform gegeben ist. Soweit erforderlich, wurden die Amalgame nach Angaben der Hersteller im Silamat angemischt.

4.2 Herstellung der Prüfkörper

Um vergleichbare Versuchsergebnisse zu erhalten, wurden alle Proben unter vorgegebenen Bedingungen hergestellt, mit dem Ziel, eine gleichförmige Oberfläche mit konstanten Abmessungen zu erhalten. Zwei Verfahren wurden hierfür angewandt:

a) mit einem einfachen, selbst hergestellten Probenformer für Handbedienung und
b) mit einem automatischen Prüfkörperhersteller nach der ADA *) - Spezifikation Nr. I/1978 (4.3.3)

4.2.1 Herstellung der Proben mit dem einfachen Probenformer für Handbedienung (Abb. 2)

In einen Plexiglaskörper wurde ein Kanal mit 5 mm Durchmesser gefräst und ein genau in diesen passender Kolben angefertigt. Der Plexiglaskörper wurde auf einer Grundplatte mit passender Aussparung montiert.
Das triturierte Amalgam konnte somit zwischen Kolben und Grundplatte gestopft werden. Um einen gleichmäßigen Stopf-

*) American Dental Association

druck zu erhalten, wurde der Kolben einer stets gleichen Kraft ausgesetzt, indem durch ein Führungsrohr ein Gewicht mit der Masse 0,5 kg über 0,7 m freien Fall beschleunigt und auf den Kolben geleitet wurde.
Nach dem Aufprall blieb das Gewicht dort 4 Sekunden liegen, wurde anschließend wieder in die Ausgangslage gebracht und der Vorgang viermal wiederholt. Jedesmal wirkte somit ein Stoß mit einer Kraft von 350 N (Tab. 2), danach für 4 Sekunden eine Kraft von 5 N auf den Kolben ein.
Die Lagerung der fertig gestopften Probe erfolgte in einer verschlossenen Petrischale bei 37° C und 100% relativer Luftfeuchtigkeit im Brutschrank.

4.2.2 Probenherstellung mit dem automatischen Former

Der Stopfdruck wird über einen pneumatisch betriebenen Stempel auf den Kolben übertragen, wobei sowohl Stopfdruck als auch zeitlicher Ablauf durch die Automatik gesteuert wird (Abb. 3 und 4).
Die Hohlform für die Prüfkörperherstellung besteht aus sechs Teilen, nämlich einer Grundplatte, zwei Platzhaltern, der eigentlichen Form und zwei verschieden langen Kolben. In den Halter (Abb. 3 und 4) werden nacheinander der Platzhalter 2, dann 1 eingesetzt. Dann bringt man Kolben Nr. 1 in die Bohrung zwischen den Platzhaltern. Darauf fügt man die Form in die der Kolben Nr. 2 nach Einfüllen des Amalgams eingeführt wird.
Nach dem Anmischen wurde das Amalgam mit einem Stopfer in die Hohlform gegeben, wobei darauf zu achten war, daß kein Quecksilber abgepreßt wurde. Anschließend wurde der Kolben Nr. 2 eingeführt und automatisch nach folgendem zeitlichen Ablauf gestopft:

Triturationsende	0 sec
Einbringen der Anmischung in die Form und Beginn der Belastung mit 14 N	30 sec
Aufhebung der Belastung und Entfernen des Platzhalters 2	45 sec

Beginn der Wiederbelastung mit 14 N bei	50 sec
Aufhebung der Belastung	90 sec
Hg-Überschuß entfernen und Prüfkörper entnehmen zur Aufbewahrung bei 37 Grad	120 sec

Alle Metallteile wurden vor dem Stopfvorgang auf 37° C erwärmt, der Probekörper nach der Entnahme nicht weiter bearbeitet.

4.3 Herstellung des Lösungsmittels

Als Lösungsmittel diente Zellkulturmedium *, dem New-born-calf Serum ** bis zu einer endgültigen Konzentration von 5%, 10% oder 20% zugesetzt wurde. Ferner waren dem Lösungsmittel Hepes Puffer *** (3 g/l), sowie $NaHCO_3$ (2,2 g/l) zugesetzt.
Die Herstellung des Lösungsmittels erfolgte unter aseptischen Kautelen.
Der gemessene pH-Wert betrug 7,5.

4.4 Eluation

Die Prüfkörper wurden in verschlossenen Petrischalen, 37° C und 100% relativer Luftfeuchtigkeit im Brutschrank 1 Stunde, 24 Stunden oder eine Woche gelagert und anschließend in 5 ml des jeweiligen Mediums gegeben. Die Proben wurden in verschließbaren Polypropylengläsern aufbewahrt.
Die Eluation erfolgte 24 Stunden bei 37° C, dann wurden die Prüfkörper aus dem Medium entfernt, wobei bakterielle Kontamination vermieden wurde.
Die weitere Lagerung des Eluats bis zur Messung erfolgte bei 4° C.

---

* BME, Basal Medium Eagle, Diploid Earle Pulver, Gibco Europe GmbH, 7500 Karlsruhe, Postf. 21065, Cat.Nr.420-1300
** New born calf serum, Gibco Europe, Karlsruhe, Batch.Nr.U 317 401
*** Hepes Puffer, Flow Laboratories GmbH, Bonn, Postf. 3069

4.5 Meßmethoden

4.5.1 Polarographie

4.5.1.1 Geräte und Reagenzien

A) Geräte (Abb. 5, 6, 7):

Polarographierstand E 505 * (Abb. 7)
Polarograph E 506 * (Abb. 6) mit eingebautem Schreiber.
PH-Meter E 510 * (Abb. 6)
Bezugselektrode Ag/AgCl/KCl sat EA 437 *
Hilfselektrode Pt EA 202
Mit Aluminiumspänen gefüllter Topf
Regelbare Elektro-Heizplatte
Thermometer
Bunsenbrenner
Halteklammern für Reagenzgläser

B) Reagenzien:

1 n KCl für Bezugselektrode
KCl gesättigt für Bezugs- und pH-Elektrode
1 n HCl reinst als Grundelektrolyt
3 n NaOH reinst zu pH-Wert Einstellung
H_2SO_4 (konz.)
HNO_3 (konz.)
daraus hergestellt Nitriersäure im Verhältnis
H_2SO_4 : HNO_3 = 1 : 1
Bidestilliertes Wasser

4.5.1.2 Vorbereitung des Polarographen

Die Ag/AgCl-Elektrode war von einem inneren, mit gesättigter KCl-Lösung gefüllten und einem äußeren mit 1 n KCl-Lösung gefüllten Frittengefäß umgeben. Beim Füllen der Frittengefäße ist sorgfältig darauf zu achten, daß keine Luftblasen zurückbleiben, da sonst die Messung durch Übersteuerungen erheblich gestört würde.

*) Hersteller Metrohm, Herisau, Schweiz
Vertrieb: Deutsche Metrohm, 7024 Filderstadt, In den Birken

Vor jeder Messung muß das Meßgefäß gründlich mit bidestilliertem Wasser ausgespült werden, um Verunreinigungen durch restliche Metallionen zu vermeiden. Auch die Elektroden werden vor Einsetzen des Meßgefäßes gründlich abgespült, denn auch sie kommen mit der Meßflüssigkeit in Berührung und können Verunreinigungen bewirken.
Als erstes wird ein Meßdurchgang im reinen Grundelektrolyten durchgeführt um eventuelle Verunreinigungen zu erkennen. Nach Einsetzen des Meßgefäßes wird zuerst überprüft, ob bei geöffnetem Hahn das Quecksilber gleichmässig abtropft. Hierbei befindet sich der Schalter (3) in Stellung "normal" (Abb. 5 und 7).
Da in der Meßlösung u.U. vorhandener Sauerstoff beim kathodischen Spannungsdurchlauf reduziert würde und dadurch ein störendes Signal entstünde, wird dieser vor der Messung durch Entlüftung mit reinem Stickstoff ausgetrieben. Eine Sättigung mit diesem Inertgas wird nach 10 Minuten erreicht. Anschließend kann man mit dem Meßdurchlauf beginnen.

4.5.1.3 Die Messung am Polarographen

Gemessen wird mit der tropfenden Quecksilberelektrode. Am Polarecord E 506 werden folgende Einstellungen vorgenommen (Abb. 5):

Schalter(7): Funktionsschalter in Stellung "P"
" (8): Startspannung U_{start} Stellung "0 V"
" (9): Spannungsdurchlauf dU auf "-1,5 V"
" (10): Tropfzeit Hg t_{drop} Stellung "0,4 sec"
" (11): Empfindlichkeit auf Stellung "$2{,}5 \times 10^{-9}$"
" (12): Schalter I_{comp} auf Stellung "-175"
" (13): Schalter $I_{c\ comp}$ auf Stellung "053"
" (14): Schalter U pulse base auf "+120"
" (2): Papiertransport auf "transp"
" (3): Hg-Abklopfmechanismus auf "rapid"
" (4): Automat.Spanngs.Durchlauf auf "run"

Als Grundelektrolyt dient 1 n HCl (reinst). Nachdem die

Grundkurve, d.h. die Kurve des leeren Elektrolyten aufgezeichnet ist, gibt man das Probenmaterial dazu und spült 10 Minuten mit Stickstoff. Anschließend wird die Messung im Probenmaterial durchgeführt. Die beim jetzigen Durchlauf entstehenden Peaks sind vom Standort auf dem Polarogramm her stoffspezifisch. Man liest die Spannung, auf der die Spitze des Peaks liegt ab und kann auf Tabellen (Tab. 3) das Metall bestimmen.

4.5.1.4 Mengenbestimmung durch Standardaddition

Vor einem weiteren Meßdurchlauf wird eine definierte Menge des gesuchten Metallions in die Probenlösung gegeben. Hierzu wurden handelsübliche Standardlösungen* für Cu, Zn, Sn und Cd mit 1 g/l Stammkonzentration verwendet.
Die bekannte, neu zugegebene Menge "d" erhöht nun den vorhandenen Peak der gesuchten Menge "x" um einen bestimmten Betrag (Abb. 8). Da der Zuwachs des Peaks im linearen Bereich lag, wurde die ursprüngliche Konzentration von Metallionen in der Probenflüssigkeit zurückgerechnet.

4.5.1.5 Aufschluss des proteinhaltigen Mediums für die Messung mit dem Polarographen

Das Protein in der Probe mußte restlos entfernt werden, da ansonsten eine Messung mit dem Polarographen nicht möglich war. Dazu wurde in ein 15 ml-Reagenzglas 4 ml des Probenmediums gegeben und vorsichtig getrocknet. Um eine Blasenentwicklung, die durch Oberschäumen zu Verlusten führen könnte, zu vermeiden, setzte man die Probe in einen mit Aluminiumspänen gefüllten Topf, dessen Temperatur über eine regelbare Elektro-Heizplatte auf ca. 70° C gehalten wurde. Die Kontrolle der Temperatur erfolgte über ein Thermometer in der Aluminiumfeilung.
Nach 24 Stunden ist die Probe auf ungefähr ein Drittel des ursprünglichen Volumens eingedickt. Nun kann über dem Bunsenbrenner bis zur vollständigen Trockne weiter erhitzt

*) Hersteller: Ventron GmbH., Postfach, Karlsruhe

werden, wobei stets darauf zu achten ist, daß die Blasenentwicklung nicht so heftig wird, daß die Probe überkochen kann. Nachdem die Probe im Reagenzglas braunschwarz verkohlt ist, gibt man nach Abkühlen 3 ml Nitriersäure dazu. Die Probe wird nun wieder über dem Bunsenbrenner erhitzt, bis das verkohlte Protein vollständig in der Säure gelöst ist. Auch hier darf nichts überkochen. Der jetzt gelbliche Reagenzglasinhalt wird unter dem Abzug 48 Stunden lang bei 90° C gehalten. Anschließend wird die Probe über dem Bunsenbrenner wieder bis zur vollständigen Trockne eingeengt. Dieser Vorgang wird so oft wiederholt, bis auch der letzte Tropfen der Säure sich nicht mehr dunkel verfärbt, sondern glasklar bleibt und auch die Trockensubstand eine weiße Farbe behält. Es kann auch jeweils eine erneute Standzeit bei 90° eingefügt werden, wodurch weniger Säure benötigt wird.
Der jetzt proteinfreien Probe werden nach Abkühlen 4 ml bidestilliertes Wasser zugegeben, über der Flamme auf die Hälfte eingeengt und in das Polarographiergefäß gegeben. Dieser Vorgang wird mehrfach wiederholt, damit keine Rückstände im Reagenzglas verbleiben, was Meßverluste zur Folge hätte.
Das ganze Aufschlußverfahren sollte wegen der auftretenden Dämpfe unter dem Abzug durchgeführt werden.

4.5.1.6 Bestimmung von Kupfer, Zinn und Cadmium

Die aufgeschlossene Probe wird nun wie bereits oben beschrieben im Polarographiergefäß mit Stickstoff durchspült und anschließend gemessen. Danach gibt man jeweils 5 µl von den Standard-Lösungen für Cu, Sn und Cd in die Meßlösung. Bei der Durchspülung mit Stickstoff wird gleichzeitig ausreichend durchmischt. Nun wird das Polarogramm für die Lösung ein weiteres Mal aufgezeichnet. Die Peaks sind jetzt entsprechend der zugegebenen Menge höher (Abb. 8).

4.5.1.7 Bestimmung von Zink

Da $E_{1/2}$ für Zink im Grundelektrolyten HCl bei -0,98 V, also bereits im aufsteigenden, schlecht meßbaren Teil der Kurve liegt, wird wie folgt verfahren:

Der pH-Wert in der Meßzelle wird unter ständigem Durchspülen mit Stickstoff vom bisherigen Wert zwischen 0,5 und 0,8 durch vorsichtige Zugabe von 3 n NaOH auf 13 erhöht. Dadurch wird der Bereich der Grundkurve so breit, daß Zink, obwohl es sich in den negativeren Spannungsbereich verlagert, bequem gemessen werden kann.

Der pH-Wert wird mit dem pH-Meter*, das in pH-7-Puffer geeicht wurde, überprüft.

Am Polarographen E 506 wird die Einstellung für U(start) auf -0,8 V verändert. Nach Zugabe der Natronlauge muß wieder 10 Minuten mit Stickstoff durchspült werden, bevor mit dem Meßdurchlauf begonnen werden kann.

Nach der Messung wird das im Polarographiergefäß vorhandene Quecksilber in einem gesonderten Behälter gesammelt.

---

*) Typ EA 510, Metrohm, Herisau (S); Vertrieb: Deutsche Metrohm, in den Birken, 7024 Filderstadt

4.5.2 Atomabsorptionsmethode mit Graphitrohrküvette (CRA)

4.5.2.1 Allgemeines zur Bedienung

Gearbeitet wurde mit dem AAS Typ.AA 375* (Abb. 9) und dem Steuergerät CRA 90* (Abb. 10).

Nach Einsetzen der Hohlkathodenlampe in ihre Haltevorrichtung und Einstellen von Wellenlänge und Lampenstrom müssen alle Teile justiert werden. Hierzu wird am AAS auf Singlebeam (SB) geschaltet. Mit den Justierknöpfen werden Lampe und Graphitrohr so eingestellt, daß der Zeiger am Anzeigeinstrument im Umkehrpunkt, also seinem Maximum ruht. Anschließend wird auf Doublebeam (DB) zurückgeschaltet (Abb. 9).

Das Graphitrohr (a) wird zwischen die beiden Elektroden (b) geschoben und mit dem Schwenkhebel (c) festgestellt (Abb. 11), dabei muß ein fester Kontakt zwischen Elektroden und Graphitrohr bestehen, da sonst elektrische Störungen, z.B. Funkenflug, die Messung beeinträchtigen könnten.

Küvette und Elektroden werden laufend von Argon umspült und so vor zu schnellem Zerfall geschützt.

Zudem kann jetzt die Messung nicht durch Luftsauerstoff beeinträchtigt werden. Eine Wasserkühlung sorgt dafür, daß nach den Messungen, bei denen sehr hohe Temperaturen erzeugt werden, schnell wieder die Ausgangstemperatur erreicht wird.

Am Steuergerät CRA 90 (Abb. 10) werden Temperatur und Zeit für Trocknung "dry", Veraschung "ash" und Atomisierung eingestellt. Am Schalter ramp-rate kann die Anstiegsgeschwindigkeit der Temperaturen pro Zeiteinheit eingestellt werden. Zur Einstellung wird der links außen befindliche Knopf gedrückt (a, d, g), dann kann die eingestellte Temperatur am Anzeigeinstrument (n), die Zeit für den jeweiligen Vorgang direkt am Drehknopf (c, f, i) ab-

*) Varian GmbH., Alsfelder Str. 6, 6100 Darmstadt-11

gelesen werden.
Vor Beginn einer Meßreihe oder nach dem Auswechseln einer Küvette wird diese bei maximaler Temperatur ausgeheizt, um eventuelle Rückstände restlos zu beseitigen. Hierfür wird der Schalter (1) "max.temp" kurz betätigt. Gestartet wird der Vorgang am Schalter (m) "operate".
Die einzustellenden Parameter werden jeweils in den einzelnen Kapiteln aufgeführt.

4.5.2.2 Bestimmung von Kupfer

Da die Nachweisgrenze sehr niedrig ist (ca. 4 ng/ml) mußte eine entsprechende Verdünnung vorgenommen werden, um nicht aus dem linearen Bereich der Eichkurve herauszukommen. Im vorliegenden Fall erwies sich eine Verdünnung von 1 : 20 als zweckvoll. In ein 1 ml-Polypropylenröhrchen pipettiert man 1 ml bidestilliertes Wasser, verwirft davon 50 µl und ersetzt diese durch 50 µl des Probenmediums. Für die Eichung wurden dieselben Proben, jedoch mit reinem Medium und definierten Mengen des gesuchten Metalls hergestellt.

4.5.2.2.1 Herstellung der Eichlösung

Aus der Stammlösung mit 1 g Cu/l wurde über eine Zwischenstufe eine Eichlösung mit 1 ng/µl hergestellt.
Dazu wurden in ein Polypropylen (PP)-Reagenzglas 5 ml bidestilliertes Wasser pipettiert, davon 50 µl verworfen und aus der Stammlösung mit 1 g/l ersetzt. Nach guter Durchmischung entstand die Eichlösung 1 (E1) mit 10 ng/ml.
In ein zweites PP-Reagenzglas wurden ebenfalls 5 ml Bidest pipettiert, 500 µl verworfen und durch dieselbe Menge aus E 1 ersetzt. Es entstand die Eichlösung 2 (E2) mit 1 ng/µl, aus der alle Eichproben hergestellt wurden.

4.5.2.2.2 Erstellung der Eichkurve

Für die wässrige Eichung wurden Eichproben mit 0, 25, 50, 100 und 200 ng Cu/ml hergestellt. In 1 ml-PP-Röhrchen wurde 1 ml bidestilliertes Wasser pipettiert, dann nacheinander 0, 25, 50, 100 und 200 µl verworfen und durch dieselbe Menge aus E 2 ersetzt, durchmischt und ins AAS eingespritzt.
Zur Eichung mit dem Medium wurden aus allen PP-Röhrchen nacheinander 50 µl Wasser durch Medium ersetzt, durchmischt und dann wie oben beschrieben die Eichlösungen aus E 2 hergestellt und ins AAS eingespritzt.
Die am Schreiber aufgezeichnete Signalhöhe der Peaks ist proportional zur Metallkonzentration in der Lösung, so daß eine Eichkurve gezeichnet werden kann, indem man die Signalhöhe im mm gegen die Metallionenkonzentration pro ml aufträgt. Ein eventuell vorhandener Nullwert muß dabei abgezogen werden. Aus dieser Eichkurve (Abb. 15a) können alle später ermittelten Werte abgelesen werden.

4.5.2.2.3 Einspritzen der Proben

Die Einspritzmenge betrug bei allen Proben 5 µl. Mindestens drei Messungen sind erforderlich, um Pipettierfehler auszugleichen. Bei größeren Abweichungen zwischen den einzelnen Meßwerten ist auch noch häufigeres Messen angezeigt. Aus den Ergebnissen wurde der Mittelwert gebildet.
Die Mediumproben haben eine äußerst hohe Viskosität und Wandhaftung in der Pipettenspitze. Es ist daher unbedingt erforderlich, äußerst sorgfältig zu pipettieren, da sonst schwer kontrollierbare Meßfehler die Folge sind. Es empfiehlt sich daher die Benutzung einer 5 µl Oxfordpipette*.

---

*) Sherwood Medical GmbH., Frankfurter Allee 10-12, 6236 Eschborn

4.5.2.2.4 Geräteeinstellung für die Cu-Messung

Am AAS werden folgende Einstellungen vorgenommen:

Wellenlänge: 324,9 nm
Spalt: 1
Lampenstrom: 5 mA

An der Steuereinheit CRA 90 wird eingestellt:

Dry:	T =	150° C	t = 50 sec
Ash:	T =	650° C	t = 35 sec
Atomize:	T =	2.150° C	t = 1 sec
Ramp rate:	500° C/sec		

4.5.2.3 Bestimmung von Zink

Da Zink ein ubiquitär vorkommendes Metall ist und daher Zinkverunreinigungen sehr leicht und überall vorkommen können, muß äußerst sauber gearbeitet werden. Es ist ratsam, nur neue und gespülte Reagenzgläser und Probengefäße zu verwenden. Wasser und Gefäße sind durch vorangehende Messungen auf einen eventuell vorhandenen Leerwert zu überprüfen. Pipettenspitzen und die Innenseiten von Gefäßen dürfen nicht mit den Fingern berührt werden.
Die Eichlösungen werden, wie für die Bestimmung von Cu beschrieben, hergestellt. Je nach Zinkgehalt der Probe muß eine entsprechende Verdünnung gewählt werden. In unserem Fall wurden Verdünnungen sowohl von 1:20 als auch von 1:100 verwendet. Wichtig ist hier die Messung des reinen Mediums, da dieses schon einen Blindwert aufweist.

Für jede einzelne Verdünnung muß ein separater Leerwert und eine separate Eichkurve erstellt werden, da diese Werte sich mit der Konzentration des Mediums ändern.

4.5.2.3.1 Geräteeinstellung für die Zn-Messung

Am AAS werden folgende Einstellungen vorgenommen:

Wellenlänge: 214 nm
Spalt: 1
Lampenstrom: 9 mA

An der Steuereinheit CRA 90 wird eingestellt:

Dry:	T =	160° C	t = 35 sec
Ash:	T =	420° C	t = 60 sec
Atomize:	T =	1.700° C	t = 1 sec
Ramp rate:	400°/sec		

Für Einspritzung und Pipettieren gilt das oben Erwähnte.

4.5.2.4 Bestimmung von Silber

Die Bestimmung von Silber mit dem AAS ist besonders gut durchführbar. Die Nachweisgrenze liegt bei 2 ng/ml. Störfaktoren haben nur geringen Einfluß auf die Messung. Die Eichungen, sowohl wässrig als auch im Medium wurden, wie bereits beschrieben, durchgeführt. Allerdings mußten auf Grund des geringen Silbergehaltes der Proben keine Verdünnungen hergestellt werden. Ein geringer Nullwert, vermutlich durch nicht vollständig veraschtes Medium, mußte von den Messungen abgezogen werden. Nach Abzug dieses Wertes waren wässrige Eichung und Eichung im Medium identisch.

4.5.1.4.1 Geräteeinstellung für die Ag-Messung

Am AAS werden folgende Einstellungen vorgenommen:

Wellenlänge:	327,8 nm
Spalt:	1
Lampenstrom:	5 mA

An der Steuereinheit CRA 90 wird eingestellt:

Dry:	T =	100° C	t = 35 sec
Ash:	T =	500° C	t = 60 sec
Atomize:	T =	1.800° C	t = 1 sec
Ramp rate:	400° C/sec		

Für die Einspritzung und Pipettieren gilt das Erwähnte.

4.5.2.5 Bestimmung von Cadmium

Zur Bestimmung von Cadmium wurde ein Extraktionsverfahren angewendet. Da jede einzelne Probe aufgeschlossen werden muß, ist es hier ratsam, mit der Aufstockmethode zu arbeiten.

Folgende Chemikalien sind bereitzustellen:

1,04 g $CaCl_2$ in 1 l bidestilliertem Wasser

1,00 g Natriumdiäthyldithiocarbonat (Trihydrat) in 100 ml bidest. Wasser ==⇒ NaDDC-Lsg.

22,71 g Tris(hydroxymethyl)aminomethan in 250 ml bidest. Wasser ===⇒ Tris-Puffer
Dieser Puffer wird mit verdünnter HCl auf pH 7 eingestellt.

Methylisobutylketon (MIBK) als organisches Lösungsmittel.

4.5.2.5.1 Herstellung der Meßproben und der Eichkurve

Für die Eichung wurden Proben mit 0, 5, 10, 20 und 50 ng/ml hergestellt. Als Stammlösung diente auch hier wieder ein handelsüblicher Standard* mit 1 g Cd/l.

Die Eichlösungen E1 und E2 wurden wie oben beschrieben hergestellt.

Die Meßproben wurden wie folgt vorbereitet:

In ein PP-Reagenzglas wurden 3 ml Medium pipettiert und je nach Probe 0, 5, 10, 20 und 50 µl aus E2 dazugegeben. Anschließend werden nacheinander dazupipettiert:

- 1 ml Tris-Puffer
- 1 ml NaDDC-Lösung als Komplexbildner
- 0,5 ml $CaCl_2$
- 1 ml MIBK als Extraktionsmittel

Nun wird durch schütteln über mindestens 5 Minuten gut durchgemischt, anschließend 30 Minuten lang bei 5000 U/Min zentrifugiert. Der helle Oberstand im

*) Ventron GmbH., Postfach, 7500 Karlsruhe

Reagenzglas wurde zur Messung verwendet.
Da hier wegen der vielen Reagenzien eventuell Schwankungen auftreten können, erschien es ratsam, nach der Additionsmethode zu arbeiten. Jede zu untersuchende Probe wurde zweimal aufgeschlossen, einem Aufschluß jedoch eine definierte Menge Cd zugesetzt.
Durch die definierte Menge wird der Peak der gesuchten Menge um einen bestimmten Betrag höher, wodurch sich die gesuchte Menge ausrechnen läßt (s. Standard-Additionsmethode, Kap. 4.5.1.4).

4.5.2.5.2 Geräteeinstellung für die Cd-Messung

Am AAS werden folgende Einstellungen vorgenommen:
Wellenlänge: 228,8 nm
Spalt: 1
Lampenstrom: 5 mA

An der Steuereinheit CRA 90 wird eingestellt:

Dry:	T = 100° C	t = 40 sec
Ash:	T = 400° C	t = 45 sec
Atomize:	T = 1.975° C	t = 1,5 sec
Ramp rate:	450° C/sec	

Für Einspritzung und Pipettieren gilt das Gesagte.

4.5.3 Messung mit dem Kaltdampfverfahren zur Bestimmung von Quecksilber

Für die Messungen wurde ein Quecksilber-AAS Typ 2006-1* (A), sowie eine externe Pumpe (C) und ein automatischer Rüttler (B) verwendet (Abb. 12).
Am Ausgang der Meßzelle wurde die externe Pumpe angeschlossen (Abb. 13), am Eingang zur Meßzelle der Schlauch, der aus dem Reagenzglas mit dem Probenmaterial das gasförmige Quecksilber heranführt.
In diesen Schlauch ist ein Trockenfilter eingefügt (E).
Das Reagenzglas mit der Probe steht auf dem automatischen Rüttler. Wie die Abb. 14 zeigt, sind in den Verschlußstopfen zwei dünne Glasröhrchen eingelassen. Das tiefsitzende Glasröhrchen dient der Zuführung von Reagenzien, das hochsitzende Glasröhrchen mit dem Schlauchanschluß als Ansaugrohr, welches zum AAS führt. Das Ansaugrohr muß deshalb hochgezogen sein, damit ein versehentliches Ansaugen der flüssigen Phase vermieden wird.

4.5.3.1 Herstellung der Eichkurve

Aus der Stammlösung ** mit 1 g Hg/l wird durch Verdünnen mit 1 n H_2SO_4 eine Eichlösung mit 1000 ng/ml hergestellt. Ferner benötigt man als Reduktionsmittel eine 10%ige $SnCl_2$-Lösung. Als Lösungsmittel dienst stets 1 n H_2SO_4.
Aus der Eichlösung mit 1000 ng Hg/ml wurde in verschiedene PP-Reagenzgläser 10, 20, 50, 100 und 200 µl entsprechend 10, 20, 50 usw. ng Quecksilber pipettiert.
Nach Einschalten der Pumpe und Justieren des Nullwertes wird jedes Proben-Reagenzglas auf den Rüttler gestellt und mit dem oben beschriebenen Stopfen verschlossen. Durch das Eingangsrohr werden 500 µl der $SnCl_2$ - Lösung gegeben und anschließend sofort 10 Sekunden lang auf dem Rüttler vermischt.

---

*) APTC, Anti Pollution Technology Corporation, Kollen Park Drive, Holland, Mich.49423 USA
**) Ventron GmbH., Postfach, 7500 Karlsruhe

Danach wird sofort der Ansaugschlauch mit der Meßzelle des AAS verbunden.
Die erhaltenen Meßwerte können sowohl von einem externen Schreiber auf Millimeter-Papier aufgezeichnet werden als auch direkt an der geräteinternen Anzeige abgelesen werden. Mit den erhaltenen Werten kann wieder eine Eichkurve erstellt werden.

4.5.3.2 Vorbereitung der proteinhaltigen Proben für die Messung

Zur Aufbereitung der Mediumproben werden folgende Reagenzien benötigt:

- Nitriersäure: rauchende Salpetersäure (HNO_3 65%) und konz. Schwefelsäure (H_2SO_4 97%) werden im Verhältnis 1:1 gemischt.
- 10%ige Kaliumpermanganat-Lösung in bidest. Wasser ($KMnO_4$)
- 5%ige Hydroxylammonium-Chlorid-Lösung in 1 n H_2SO_4

Alle Reagenzien müssen in reinster Form vorliegen. Verunreinigungen sind zu vermeiden. Die Aufbewahrung muß im Kühlschrank erfolgen.
Um das Quecksilber aus dem Protein herauszulösen und im Kaltdampf-AAS meßbar zu machen, müssen verschiedene Reaktionsstufen durchschritten werden.
In ein PP-Reagenzglas wurden 500 µl der proteinhaltigen Probe pipettiert. Diese wurde in einem Becherglas, das mit Eiswasser gefüllt war, kaltgestellt. Das Reagenzglas mußte nun bis zur Messung mit einem Stopfen fest verschlossen bleiben, da sonst bereits gasförmiges, leicht flüchtiges Quecksilber hätte entweichen können. Nur zur Beimengung von Reagenzien durfte der Stopfen kurz entfernt werden.
Der gekühlten Probe wurden nun 500 µl Nitriersäure zugesetzt. Danach wurde sie sofort wieder verschlossen und im Eisbad gekühlt. Nach etwa 15 Minuten wurden 500 µl von der $KMnO_4$-Lösung hinzugegeben, kurz und vorsichtig gemischt, danach das Reagenzglas wieder ins Eisbad gestellt, wo die Probe über Nacht (18 bis 20 Std.) belassen wurde.

Vor der Messung wurde die Probe in einem neuen Eisbad gekühlt. Zur Vorreduktion wurden nun 500 µl Hydroxyl-Ammonium-Chlorid-Lösung beigegeben und im Eiswasser unter leichter Bewegung so lange belassen, bis der Überschuß des Kaliumpermanganat verschwunden war.
Jetzt wurde die Probe, wie oben beschrieben, nach Zugabe von 500 µl Zinn-2-Chlorid-Lösung unter Rütteln gemessen.

4.5.3.3 Eichung mit dem Probenmedium

Um festzustellen, ob Abweichungen zwischen der wässrigen Eichung und dem Quecksilbersignal im Medium bestehen, wurden reinem Medium definierte Mengen Quecksilber zugesetzt. Aus der Eichlösung mit 1000 ng/ml wurden 25, 50, 100 und 200 µl entsprechend derselben Menge in µg entnommen und jeweils zu 500 µl reinem Medium gegeben.
Anschließend wurde nach demselben Verfahren wie für die oben beschriebene Mediumprobe aufbereitet und gemessen. Da die definierte Menge jeweils einem halben Milliliter des Mediums zugesetzt worden war, mußte der erhaltene Meßwert verdoppelt werden, um die gewünschten Werte pro Milliliter zu erhalten. Es entsteht eine Eichkurve wie in Abb. 15 b dargestellt.
Ein Vergleich mit der wässrigen Eichung zeigt, daß beide Eichkurven identisch sind.
Es ist jedoch trotzdem ratsam, bei jeder Meßreihe einige Proben mit definierten Mengen ebenfalls aufzubereiten und zu messen. Dadurch können Schwankungen, die durch schlechte Reagenzien oder durch Fehler bei der Aufbereitung auftreten, erkannt werden, da die Signalhöhe dann von jener der Eichkurve abweicht.

4.5.4 Messungen am Flammen-AAS

4.5.4.1 Allgemeines

Für die Messungen wurde ein AAS Typ SP 1900* verwendet. Wie bereits erwähnt, wird die Energiezufuhr für die Atomisierung über eine Flamme erreicht. Je nach Art der Messung kann die Flamme auf Temperaturen bis 3000° C eingestellt werden. Maßgebend für die Höhe der Temperatur ist sowohl die Zusammensetzung, als auch das Mischungsverhältnis des Gasgemisches mit dem die Flamme erzeugt wird.

Bei den Messungen, die im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen mit dem Flammen-AAS durchgeführt wurden, ist ausschließlich ein Luft-Acetylengemisch verwendet worden, dessen Mischungsverhältnis jeweils mit den anderen Parametern zusammen aufgeführt wird.
Der Brenner, mit dem die Flamme erzeugt wird, liegt auf Gelenken im Strahlengang, so daß seine Lage verändert werden kann. Diese Lage des Brenners im Strahlengang ist ausschlaggebend für die Empfindlichkeit, mit der das AAS auf vorhandene Metallionenkonzentrationen reagiert. Das Optimum der Einstellung wird dadurch erreicht, daß man eine definierte Menge mißt, gleichzeitig den Brenner aber so lange in seiner Lage verändert, bis für diese Menge auf der Digitalanzeige im Gerät der höchste Wert angezeigt wird.
Das Probenmaterial wird über einen Schlauch automatisch angesogen und in einem kontinuierlichen Strom gleichmäßig in die Flamme gesprüht.
Ein Aufschluß der Proben war bei der Arbeit mit diesem Gerät nicht erforderlich. Die Temperaturen reichten für vollständige Veraschung und Atomisierung aus.
Das durch Absorption im Strahlengang entstehende Signal wird an der Digitalanzeige am Gerät abgelesen. Bei der Messung werden in kurz aufeinander folgenden Zeitabständen die

---

*) Hersteller: PYE Unicam, Cambridge, Yorkstreet, England

ermittelten Werte angezeigt, durch einen externen Rechner aufgezeichnet und gemittelt.
Vor der ersten Messung wird der Nullwert festgehalten. Bidestilliertes Wasser wird ins Gerät angesaugt und der entstehende Wert durch Drücken der Taste "Zero" als Nullwert fixiert.
Zwischen den Messungen muß der Nullwert durch Ansaugen von bidestilliertem Wasser jedes Mal wieder erreicht sein, bevor eine neue Probe eingegeben werden kann. Dadurch wird gewährleistet, daß sich keine Probenrückstände mehr im Meßgang befinden.
Zur Herstellung der Eichlösungen wurden auch hier handelsübliche Standards* mit 1 g/l Ausgangskonzentration verwendet, die durch Verdünnen mit Aqua bidest auf die gewünschte Konzentration gebracht wurden. Zur Erstellung der Eichkurven benötigt man ca. 20 ml Eichlösung. Die für die Eichung erforderlichen Konzentrationen werden zusammen mit den für die Messung einzustellenden Parametern aufgeführt.
Bei allen Messungen wurden die Eichkurven sowohl für die wässrige Eichung, als auch für die Eichung im Medium erstellt. Dabei stellte sich heraus, daß die Kurven identisch sind. Es reicht also aus, eine wässrige Eichung durchzuführen.

4.5.4.2 Geräteeinstellungen für die Messungen im proteinhaltigen Medium

a) Messung von Kupfer:

Wellenlänge:		324,75 nm
Spalt:		0,18 mm
Lampenstrom:		6,00 mA
Photomultiplier:		373,00 V
Gasgemisch:	Luft	4,50 l/min
	Acetylen	0,80 l/min
Brenner:	10 cm Schlitzbrenner	
Eichlösungen:	0,5/1,0/2,0/5,0/10,0/15,0 µg/ml	

*) Hersteller: Ventron GmbH., Postfach, 7500 Karlsruhe

b) Messung von Zink:

Wellenlänge:		213,90 nm
Spalt:		0,18 mm
Lampenstrom:		8,00 mA
Photomultiplier:		478,00 V
Gasgemisch:	Luft	4,50 l/min
	Acetylen	0,80 l/min
Brenner:	10 cm Schlitzbrenner	
Eichlösungen:	100/200/500/1000 ng/ml	

c) Messung von Zinn:

Wellenlänge:		383,60 nm
Spalt:		0,18 mm
Lampenstrom:		7,00 mA
Photomultiplier:		412,00 V
Gasgemisch:	Luft	5,50 l/min
	Acetylen	0,80 l/min
Brenner:	10 cm Schlitzbrenner	
Eichlösungen:	0,5/1,0/3,0/5,0/10,0 ug/ml	

5. AUSWERTUNG

5.1 Allgemeines

Bei den Kapselamalgamen waren sowohl Gewicht als auch die Größe der Oberfläche unterschiedlich. In der Tabelle 4 sind die verschiedenen Werte aufgeführt. Da die Abgabe von Metallionen an eine umgebende Flüssigkeit in erster Linie oberflächenabhängig ist, wurden alle Ergebnisse so umgerechnet, daß sie auf eine einheitliche Oberfläche von 1 cm^2 bezogen sind. Bei den aufgeführten Meßwerten handelt es sich um einen Mittelwert aus jeweils drei Proben.
Zur Eichung diente stets dasselbe Medium, in welchem auch die Eluationsversuche durchgeführt wurden. In dieses wurden definierte Mengen des gesuchten Metalls gegeben. Dadurch waren alle eventuellen Abweichungen von der wässrigen Eichung automatisch berücksichtigt. Die Bezugsmenge für alle angegebenen Werte ist stets pro Milliliter.

5.2 Umrechnung der Ergebnisse auf 1 cm^2 Oberfläche

Zur Umrechnung der Ergebnisse auf die Bezugsgröße 1 cm^2 müssen zuerst die tatsächlichen Oberflächen ermittelt werden.
Da die Proben zylinderförmig sind, errechnet sich die Oberfläche nach der Formel

$$O = 2\pi r(r+h)$$

Da die Höhen leicht differieren, wird auch von diesen wieder der Mittelwert aus allen Proben ermittelt. Der Durchmesser ist bei allen Proben, außer Cupromuc, stets 0,4 cm.
Um den Umrechnungsfaktor für die Ergebnisse zu erhalten, dividiert man 1 cm^2 durch die tatsächlich erhaltene Oberfläche in cm^2 und erhält dann den dimensionslosen Faktor, mit dem die Ergebnisse multipliziert werden müssen. Die einzelnen Werte für die Amalgamproben sind in der Tabelle 4 aufgeführt.

5.3 Berechnung der Mittelwerte aus den Meßergebnissen

Sowohl bei den Proben, als auch bei den Messungen wurden stets Mittelwerte aus mehreren Ergebnissen gebildet.
Jede Probenserie wurde dreimal hergestellt und gemessen. Dadurch können Abweichungen, die durch Verfahrensfehler entstanden sind, ausgeglichen werden.
Gleichzeitig wurde auch jede Messung mehrfach durchgeführt und deren Ergebnisse gemittelt.
Der Mittelwert wurde stets mit einem programmierbaren Tischcomputer* mit dem Statistik Programm STAT 1-01A* ermittelt. Mit demselben Programm konnte Standard-Abweichung und mittlerer Fehler berechnet werden.
Nach Angabe im zugehörigen Manual liegen dem Programm folgende Formeln zugrunde: Für $x_1, x_2, x_3 \Longrightarrow x_n$ (Meßergebnisse) (n = Anzahl Ergebnisse, k = Anzahl Mittelwerte) ist der Mittelwert:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^{n} xi$$

Standard Abweichung:

$$s_x = \sqrt{\frac{x_i^2 - n\bar{x}^2}{n - 1}}$$

Mittlerer Fehler:

$$s'_{\bar{x}} = \frac{s_x}{\sqrt{n}}$$

Mittlere Varianz:

$$D^2 = \frac{1}{9} \sum_{J}^{k} \frac{1}{2} \sum_{i}^{n} (xi - \bar{x})^2$$

Die für die Messungen zustreffenden Ergebnisse sind in den Tabellen 5 und 6 aufgeführt.
Für die Beratung bedanke ich mich bei Herrn Dr. Mau von der Abt. für med. Dokumentation und Datenverarbeitung der Universität Tübingen.

*) HP 45, Hewlett Packard, Herrenberger Straße, 7030 Böblingen

6. ERGEBNISSE

6.1 Cadmium (Cd)

Cadmium wurde bei Vorversuchen mit dem Polarographen zufällig gefunden. Es handelte sich um eine Probe von Cupro-Muc.
Daraufhin wurden alle Proben mit dem AAS auf Cadmium-Gehalt überprüft. Es konnte jedoch in keiner anderen Probe nachgewiesen werden. Nur bei Cupro-Muc wurden die polarographisch ermittelten Ergebnisse 1,92 µg/ml (unabhängig von Proteinkonzentration und Liegedauer) bestätigt.

6.2 Zink (Zn)

Die mit dem automatischen Probenformer hergestellten Proben wurden mit dem Flammen AAS gemessen. Die ermittelten Werte für den Zink-Gehalt ergaben einen einheitlichen Kurvenverlauf (Abb. 16). Die anfangs höheren Werte sinken auf einen konstanten Mindestwert ab.
Die Zink-Konzentrationen liegen für die meisten Materialien auf demselben Niveau, der Maximalwert zwischen 50 und ca. 100 ng/ml (Tabelle 7).
Die einzige Ausnahme hiervon bildet Dispersalloy, das von 6,4 µg/ml auf 2,5 µg/ml absank, und somit eine 25 bis 40 mal höhere Konzentration aufweist. Da Dispersalloy, laut Hersteller, ein zinkhaltiges Amalgam ist, war dies zu erwarten.
Die Ergebnisse jener Proben, die mit dem Handprobenformer hergestellt wurden, sind in Tabelle 11 aufgeführt. Zur Messung wurde das AAS mit CRA benützt. Die Werte liegen leicht über denen des automatischen Probenformers. Meist wurde das Maximum nach 24 Stunden gemessen.
Bei allen Probenserien war eine Abhängigkeit vom Proteingehalt nicht nachzuweisen (Tab. 14).

6.3 Silber (Ag)

Die für die Silberkonzentration ermittelten Werte waren am geringsten. Die Messungen erfolgten mit dem AAS-CRA. Der Konzentrationsverlauf gegen die Zeit ist in Abb. 17, die genauen Einzeldaten in Tabelle 8 zusammengestellt. Der Kurvenverlauf (Abb.17) zeigt, daß auch hier die Liegedauer entscheidend ist.
Die Kurven für Cupromuc, Disperstalloy und Sybralloy sind vom Verlauf her kontinuierlich abfallend, wobei wiederum in den ersten 24 Stunden ein Mindestplateau erreicht wird.
Abweichend davon ist der Kurvenverlauf für Amalcap, das offenbar erst nach 7 Tagen sein Maximum erreicht und von Amalcap-non-gamma-2, das nach 24 Stunden seine Maximalkonzentration erreicht und dann steil abfällt.

Eine Abhängigkeit vom Proteingehalt konnte nicht nachgewiesen werden (Tab. 14).

6.4 Kupfer (Cu)

Die mit dem automatischen Probenformer hergestellten Proben wurden mit dem Flammen-AAS gemessen. Der Kurvenverlauf für die Kupferkonzentrationen (Abb. 18) ist bis auf eine Ausnahme gleich. Die Kurven streben einem maximalen Grenzwert zu, wobei die Hauptveränderung in den ersten 24 Stunden stattfindet. Nur die Kurve für Amalcap fällt von einem Maximalwert gegen den Grenzwert ab, jedoch ebenfalls mit der Hauptveränderung in den ersten 24 Stunden. Die einzelnen Werte sind in Tab. 9 zusammengestellt.
Die Ergebnisse derjenigen Proben, die mit dem Handprobenformer hergestellt und auf dem AAS mit CRA gemessen wurden, sind in Tabelle 12 aufgeführt. Auch hier liegen, wie bei Zink, die Werte höher als bei jenen Proben, die mit dem automatischen Probenformer hergestellt worden waren. Der Kurvenverlauf ist jedoch identisch.

Die polarographisch ermittelten Stichproben decken sich mit den

AAS-Messungen (Amalcap 1h 257 ng/ml, Amalcap-non-Gamma-2 1 Wo 303 ng/ml).
Eine Abhängigkeit vom Proteingehalt konnte nicht nachgewiesen werden (Tab. 14).

6.5 Quecksilber (Hg)

Die Quecksilberwerte wurden aus Proben des automatischen Probenformers mit dem Kaltdampf-AAS ermittelt (Tab. 10). Die Kurven zeigen einen einheitlichen Verlauf (Abb. 19). Nachdem die Quecksilberabgabe nach 24 Stunden ein Maximum erreicht hat, fallen diese Werte wieder ab. Eine Ausnahme bildete Sybralloy, das nach einer Woche erst seine Maximalabgabe erreicht, von der Gesamtabgabe her betrachtet jedoch weit unter den anderen Sorten bleibt. Die Werte sind in Tabelle 10 aufgeführt.
Eine Abhängigkeit vom Proteingehalt konnte nicht nachgewiesen werden (Tab. 14).

6.6 Zinn (Sn)

Zinn ist im AAS mit CRA nicht meßbar, weil eine Reaktion des Zinn mit der Graphitrohrküvette dies unmöglich macht. Mit dem Flammen-AAS kann Zinn gut gemessen werden. Die Nachweisgrenze liegt bei ca. 3 µg/ml. Alle gemessenen Proben hatten Werte unterhalb dieser Nachweisgrenze.
Bei den polarographisch verarbeiteten Stichproben konnte Zinn nachgewiesen werden (Tab. 13) die Werte liegen zwischen 624 und 2800 ng/ml.

6.7 Einfluß der Liegezeit vor der Eluation

Eindeutig konnte ein Einfluß der Liegezeit auf die Menge der eluierten Metallionen festgestellt werden. Dies kommt besonders

deutlich auf den Abb. 16 und 19 zum Ausdruck. Es konnte wiederholt festgestellt werden, daß innerhalb der ersten 24 Stunden die Hauptaktivität stattfindet, während nach einer Woche offenbar alle Reaktionsvorgänge abgeschlossen sind. Die Kurven nähern sich einem konstanten Grenzwert.

6.8 Einfluß der Probenherstellung

Die ermittelten Werte der eluierten Metallionen lagen bei den Proben, die mit dem automatischen Probenformer hergestellt wurden stets etwas niederiger. Lediglich Dispersalloy verhielt sich genau umgekehrt. Dies kann allerdings daran liegen, daß verschiedene Chargen verwendet wurden, deren Herstellungsdatum sechs Jahre auseinanderliegt (HRI 8137-002840 Herst. 1974).

7. DISKUSSION

7.1 Einfluß der Prüfkörperherstellung

Bei der Herstellung der Prüfkörper sollte der automatischen Probenherstellung der Vorzug gegeben werden. Bei dieser Art der Stopftechnik werden durch die Automatik die Parameter genauestens eingehalten. Unter Umständen wirkt sich die konstante Dauerbelastung des Kolbens während der Stopfzeit positiv auf die Homogenität der Prüfkörper aus. Besonders bei Quecksilber fielen die Werte derjenigen Prüfkörper, die im Automaten hergestellt worden waren, bedeutend niedriger aus.
Hierfür dürften vor allem zwei Faktoren ausschlaggebend sein. Zum einen hat das Quecksilber während einer längeren Belastungszeit auch mehr Zeit zum Abfließen und zum anderen ist die Abflußmöglichkeit durch den mehrteiligen Bau des Probenformers, mit Platzhaltern und verschiedenen großen Bohrungen, günstiger.

Wenn man sich die Prüfkörper nach Herausnahme aus den Probenformern besah, so konnte man feststellen, daß auf der Oberfläche derjenigen Prüfkörper, die mit dem Handprobenformer hergestellt worden waren, sich immer noch größere Mengen Quecksilbers befanden, während die abgepreßte Quecksilbermenge im Probenformer des Automaten stets deutlich größer war. Allerdings entspricht der Belastungsrhythmus beim Handprobenformer eher den tatsächlichen Gegebenheiten beim Legen einer Füllung.
Es ist hier grundsätzlich zu überlegen, wie weit die Bedingungen beim Stopfen einer Amalgamfüllung, denjenigen im Patientenmund angepaßt werden sollen.
Beim Vergleich der Meßergebnisse für Kupfer und Zink zwischen den auf verschiedene Art hergestellten Prüfkörpern kann man nur noch geringe Unterschiede feststellen. Wohl ist bei denjenigen Proben, die auf dem Automaten gestopft wurden, noch ein leichter Trend zu geringeren Werten zu beobachten. Allerdings fällt der Unterschied hier kaum noch ins Gewicht, beim Silber fehlt er gänzlich.

Insgesamt betrachtet, muß wohl dem automatischen Probenformer der Vorzug gegeben werden. Da ein solches Gerät aber nicht überall zur Verfügung steht, ist nach einigen technischen Veränderungen mit dem Handprobenformer für einfache Versuche ein ausreichendes, vor allem leicht herzustellendes Gerät vorhanden. Bei den technischen Veränderungen sei vor allem an eine verbesserte Abflußmöglichkeit für Quecksilber und an eine andere Belastung des Kolbens gedacht.

7.2 Die Wahl eines geeigneten Lösungsmittels

Das für die Untersuchung verwendete Lösungsmittel mußte vier Bedingungen erfüllen:

1. Leicht herstellbar
2. Reproduzierbar herzustellen
3. Die Proteinkonzentration mußte variabel sein
4. Der pH-Wert mußte konstant sein

Hier bot sich ein standardisiertes Nährmedium an, das normalerweise für Zellkulturversuche verwendet wird. Dieses Nährmedium ist gepuffert, somit im pH-Wert konstant und zudem ist es in der Proteinkonzentration leicht variierbar.
Als Proteinfraktion diente New-born-calf Serum, als trockenes, synthetisches Medium in Pulverform diente BME, Basal-Medium-Eagle Diploid Earle Pulver. Dieses enthält neben anorganischen Salzen und Aminosäuren auch Glucose und Phenolrot. Als Puffer dienten Hepes sowie Natriumhydrogenkarbonat.
Die synthetische Mischung anorganischer Salze, die als physiologische, gepufferte Salzlösung (BSS) bezeichnet wird, hat die Aufgabe, in Kulturmedien den pH-Wert und den osmotischen Druck aufrechtzuerhalten. Außerdem wird hierdurch für eine ausreichende Konzentration wichtiger, anorganischer Ionen gesorgt.
Hepes Puffer besteht chemisch aus N-2-hydrocyäthyl-piperazin-N -äthensulfonsäure und hat bei 37° Celsius einen pKa von 7,31.

Auf Grund der Fragestellung nach der Abhängigkeit des Eluationsverhaltens von der Proteinkonzentration mußte der Proteingehalt leicht variierbar sein. Dies konnte hier durch die unterschiedliche Zugabe von Serum erreicht werden.
Die Pufferung sorgte für einen konstanten pH-Wert (7,5). Außer der Serumzugabe, die variiert wurde, waren alle Mengen genau vorgegeben, teilweise sogar fertig abgewogen verpackt, so daß Reproduzierbarkeit gegeben war. Gleichzeitig war das Herstellungsverfahren und die Lagerung einfach.
Nachteilig wirkte sich bei der Messung allerdings die im Vergleich zu Wasser erheblich höhere Viskosität des Mediums, die dadurch bedingte hohe Wandhaftung und die Neigung zur Blasenbildung aus. Beim Pipettieren in die Graphitrohrküvette des AAS-CRA entstanden erhebliche Schwierigkeiten. Nicht selten war es unmöglich, den gesamten Inhalt aus der Pipette zu entleeren. Bei einer Einspritzmenge von nur 5 µl wirkt sich das wesentlich auf die Meßgenauigkeit aus. Auch der automatische Probengeber konnte hier keine Abhilfe schaffen. Außerdem bereiteten die vielfältigen Bestandteile, aus denen sich das Medium zusammensetzt, bei fast allen Meßverfahren Schwierigkeiten beim Aufschluß, da eine vollständige Veraschung erforderlich war, um störende Signale bei der Messung zu vermeiden.
Eine Vereinfachung der Meßverfahren würde die Arbeit mit proteinfreien Lösungen mit sich bringen, z.B. Ringer-Lösung oder physiologische Kochsalzlösung. Wässrige Lösungen lassen sich mit allen Meßverfahren am einfachsten bestimmen. Eventuelle Fehler oder Verluste beim Aufschluß werden von vorneherein vermieden.

Da eine Abhängigkeit der Eluation vom Proteingehalt der Lösung nicht nachgewiesen werden konnte, erscheint dies möglich.

7.3 Wahl des geeigneten Meßverfahrens

7.3.1 Polarographie

Die Hauptschwierigkeit bei der polarographischen Bestimmung im proteinhaltigen Medium liegt darin, daß die hier

bestimmten Mengen alle im Bereich um 100 ng/ml liegen. Wie die Vorversuche mit dem Medium und definierten Zusätzen ergaben, waren Mengen ab 1 µg/ml gut nachweisbar. Bei den meisten Proben lag die Metallionen-Konzentration allerdings erheblich unter diesem Wert. Eine Erhöhung der Meßempfindlichkeit am Gerät war nicht möglich, weil dadurch der meßbare Bereich der Grundkurve zu schmal und gleichzeitig die Störung bei der Messung zu stark wurden.
Daher mußte eine relativ große Menge an Probenmaterial gemessen werden. Dies heißt aber auch eine große Menge an Protein. Da Restprotein die Messung empfindlich stört, mußte das Protein vollständig durch radikale Veraschung aufgeschlossen werden. Vorversuche, bei denen definierte Mengen im Testmedium verascht wurden, ergaben keine meßbaren Verluste der zu messenden Metallionen nach der Veraschung, so daß sich das Veraschungsverfahren als geeignet erwies.
Da die zu erwartenden Konzentrationen zwischen 300 ng/ml und 500 ng/ml lagen, die Nachweisgrenze bei diesem Verfahren jedoch bei 1 µg, wurden jeweils 4 ml des Mediums eingedickt und verascht. Polarographisch konnten die Metalle Kupfer (Cu), Zinn (Sn), Cadmium (Cd) und Zink (Zn) bestimmt werden.
Die Bestimmung von Quecksilber (Hg) war bei dem verwendeten Lösungsmittel nicht möglich, da durch die hohen Temperaturen beim Veraschen große Mengen des Hg gasförmig verloren gingen. Auch die polarographische Bestimmung von Silber (Ag) war nicht möglich, da die in den Proben enthaltene Konzentration der Silberionen so gering war, daß die zur Messung erforderlichen Mengen des Mediums viel zu groß würden. Nicht nur bei der Bereitstellung, sondern auch bei der Veraschung des Probenmaterials würde dies größte Schwierigkeiten bereiten. Ungünstig beim polarographischen Meßverfahren wirkt sich ohnehin der relativ große Bedarf an Probenmaterial aus. Daneben steht zusätzlich der sehr hohe Zeitaufwand für den Aufschluß der Proben, der im günstigsten Fall ca. 72 Stunden in Anspruch nimmt. Jede einzelne

Probe muß zudem über lange Zeit direkt über dem Bunsenbrenner bearbeitet werden, so daß auch der direkte Arbeitsaufwand beim Probenaufschluß für das polarographische Verfahren groß ist.
Auf der anderen Seite können mehrere Metalle gleichzeitig nebeneinander qualitativ und quantitativ bestimmt werden. Auch die Meßgenauigkeit steht derjenigen anderer Verfahren nicht nach, was durch Versuche mit definierten Mengen getestet wurde.
Die Polarographie eignet sich im Rahmen der hier durchgeführten Arbeit deshalb für eine Obersichtsanalyse, um festzustellen, welche Metallsorten überhaupt im Probenmaterial vorhanden sind. Cadmium wurde zum Beispiel polarographisch entdeckt.
Die Polarographie ist auch dann verwendbar, wenn nur wenige Proben gemessen werden sollen als Stichprobe zum Vergleich von Meßergebnissen anderer Verfahren.
Ungeeignet ist die Polarographie jedoch für Reihenmessungen, wie sie hier durchgeführt wurden, da der Aufwand für den Probenaufschluß einfach zu groß ist, solange proteinhaltiges Probenmaterial verwendet wird.

7.3.2 Atom-Absorptions-Spektrophotometrie (AAS) mit Graphitrohrküvette (CRA)

Mit diesem Verfahren konnten Kupfer, Zink, Cadmium und Silber gemessen werden. Die Meßempfindlichkeit dieses Verfahrens ist sehr hoch. Die Nachweisgrenzen betragen für Cu ca. 5 ng/ml, für Zn 4 ng/ml, für Cd 2 ng/ml und für Ag 1 ng/ml. Ein besonderer Probenaufschluß war nur zur Messung von Cadmium nötig. Ansonsten war die Veraschung in der Küvette während des Meßvorganges ausreichend. Da die Eichkurve im Medium einen anderen Verlauf haben kann, als die der wässrigen Eichung, muß man die Eichung stets im entsprechenden Medium vornehmen.
Auf Grund der hohen Meßempfindlichkeit mußte bei der vorliegenden Arbeit meist verdünnt werden, da die vorhandenen Konzentrationen zu hoch waren. Die Verdünnungen lagen zwi-

schen 1:20 und 1:100. Dies wirkte sich insofern nachteilig aus, als kleinste Pipettier- oder Ablesefehler, auch an der Eichkurve, sich in demselben Verhältnis wie die Verdünnung vervielfachen.
Beim verwendeten proteinhaltigen Medium entstanden beim Pipettieren in die Graphitrohrküvette die im Kap. 6.2 (S. 52f) erwähnten Schwierigkeiten, wodurch die Meßgenauigkeit oft litt. Am zuverlässigsten ließ es sich mit der Oxford-Pipette* arbeiten. Mehrmaliges sorgfältiges Pipettieren einer Probe vor dem Meßvorgang sowie mehrfaches Messen einer Probe sind unumgänglich.
In Bezug auf den Zeitaufwand für die Messungen nimmt das AAS mit CRA eine Mittelstellung bei den hier verwandten Verfahren ein. Aufwendige Aufschlußverfahren entfallen, dafür muß jedoch jede Probe verdünnt werden. Die Messung als solche, einschließlich der Abkühlzeit für die Küvette beträgt etwa drei Minuten.
Es soll nicht unerwähnt bleiben, daß bei so zahlreichen Messungen mit extrem hohen Veraschungs- und Atomisierungstemperaturen, ein entsprechend hoher Verschleiß an Graphitrohren und Graphitelektroden entsteht. Auf Grund ihrer hochwertigen Materialqualität sind diese sehr teuer. Bei Reihenversuchen, wie im vorliegenden Fall, ist deshalb dieser Kostenfaktor zu berücksichtigen.

7.3.3 Atom-Absorptions-Spektrophotometrie am Flammen-AAS

Am Flammen-AAS konnten Kupfer, Zink, Silber und Zinn gemessen werden. Die Meßempfindlichkeit und der Meßbereich liegen bei diesem Gerät zwischen dem Polarographen und dem AAS mit Graphitrohrküvette.
Silber und Zinn lagen außerhalb der Nachweisgrenze dieses Gerätes.
Für die Kupfer- und Zink-Werte dieser Untersuchung ist der Meßbereich dieses Gerätes jedoch optimal. Es war keine Ver-

---

*) Hersteller Sherwood Medical GmbH., Frankfurter Alle 10-12
6236 Eschborn.

dünnung oder Aufbereitung der Proben für die Messung erforderlich.
Die Probenaufnahme erfolgt bei diesem Gerät über einen Ansaugschlauch. Dieser wird in die Meßsubstanz eingeführt. Anschließend saugt das Gerät automatisch an. Ein kontinuierlicher Strom der Meßlösung wird in die Flamme geleitet und nach einem Zeitrhythmus mehrfach gemessen. Es gibt bei diesem Gerät also keine Probleme mit dem Pipettieren. Anschliessendes Spülen des Schlauches mit bidestilliertem Wasser reicht als Reinigung aus.
Entsprechend gering ist auch der Arbeits- und Zeitaufwand. Diese sowie der Kostenaufwand sind bei diesem Gerät am niedrigsten.

7.3.4 Atom-Absorptions-Spektrophotometrie im Kaltdampfverfahren

Dieses spezielle Verfahren ist ausschließlich für die Bestimmung von Quecksilber vorgesehen. Die Nachweisgrenze liegt bei 0,5 ng/ml. Das Aufschlußverfahren für die Proben ist wohl ein wenig langwierig, da die Proben über einen längeren Zeitraum hinweg stehen müssen. Dies fällt allerdings kaum ins Gewicht, da die Proben während dieser Zeit keiner besonderen Aufsicht bedürfen. Der unmittelbare Zeitaufwand beträgt je Probe etwa zwei Minuten, die Messung dauert etwa 40 Sekunden.
Besondere Sorgfalt ist bei diesem Verfahren für die Herstellung, Reinheit und Aufbewahrung der Reagenzien aufzubringen. Wird der schematische und zeitliche Ablauf bei der Probenaufbereitung eingehalten, sind Verluste nicht zu erwarten.

7.3.5 Vergleichende Bewertung

Bei Untersuchungen im proteinhaltigen Medium, wie sie im Rahmen dieser Arbeit durchgeführt wurden, sollte man je nach der zu messenden Metallsorte verschiedene Verfahren anwenden. Für die Messung von Kupfer, Zinn und Zink ist das Flammen-AAS vorteilhaft. Aufwand und Kosten sind gering, die Messungen sind schnell und genau, der Meßbereich ist optimal.

Silber kommt nur in äußerst geringen Mengen vor. Deshalb muß hier das empfindlichste Verfahren angewendet werden, nämlich das AAS mit Graphitrohrküvette. Auch für Cadmium ist dies das Verfahren der Wahl.
Für Quecksilber kann nur das speziell auf Quecksilber ausgerichtete Kaltdampf-Verfahren angewendet werden.
Die Polarographie eignet sich in diesem Zusammenhang sehr gut für Übersichtsanalysen. Auch Stichproben zur Oberprüfung der Meßergebnisse können hier gemacht werden. Die Metalle Kupfer, Zinn, Cadmium und Zink können nachgewiesen werden.
Auch können einzelne Proben mit diesem Verfahren gut gemessen werden. Für umfangreiche Untersuchungen eignet sich das Verfahren nicht.

7.4 Einfluß der Liegezeit

Der Kurvenverlauf der Eluationsmengen (Abb. 16 bis 19) zeigt, daß innerhalb der ersten 24 Stunden die Hauptaktivität stattfindet, während nach einer Woche offenbar alle Reaktionsvorgänge abgeschlossen sind. Die Kurven nähern sich einem konstanten Grenzwert. Ähnliche Resultate wurden bereits von anderen Autoren veröffentlicht (3, 37, 48, 52, 55).
Ursache dürfte entweder eine Verarmung der Amalgamoberfläche an unedlen Bestandteilen sein (48, 55) oder die Ausbildung einer Passivierungsschicht durch OH^- und Metallionen (Kap. 2.2 Seite 7), so daß nach einer gewissen Zeit keine Metallionen mehr in Lösung gehen, es sei denn die Oberfläche wird durch mechanische Beanspruchung "erneuert" (48, 55).
In der vorliegenden Untersuchung lagen die Amalgam-Prüfkörper während der Abbindereaktion im Trockenen. Die Tatsache, daß sich die Kurven stets einem konstanten Grenzwert nähern, könnte dadurch erklärt werden, daß sich während dieser Zeit lösliche Bestandteile auf der Oberfläche des Prüfkörpers ansammeln und erst im flüssigen Medium in Lösung gehen*.

*) pers. Mitteilung, Prof. Rehberg, Bayer Leverkusen.

7.5 Einfluß der Proteinkonzentration

Ein Einfluß der Proteinkonzentration auf die in Lösung gegangenen Metallionen war beim vorliegenden Versuchsaufbau nicht feststellbar. Offenbar war es ohne Belang, ob organische Stoffe im umgebenden Lösungsmittel waren oder nicht. Es kann keine Metallbindung an Proteine nachgewiesen werden, sondern lediglich eine Lösung der Metallionen in die umgebende Flüssigkeit.
Die Zunahme der Korrosion in Anwesenheit bakterieller Flora, wie sie ONOSE (43) feststellte, kann auch durch die Veränderung des pH-Wertes herrühren. TILL und WAGNER (52) haben eine Veränderung der Korrosionstätigkeit in Abhängigkeit zum pH-Wert festgestellt.
Die proteinhaltige Lösung bereitet bei der Messung häufig Schwierigkeiten, das Protein selbst hat bei den verwendeten Konzentrationen aber keinen Einfluß auf die Eluation der Metallionen. Ähnliche Resultate wurden bereits von MAYER und DIEHL (40) veröffentlicht.
Daher sollten bei zukünftigen ähnlichen Untersuchungen proteinfreie Lösungsmittel verwendet werden. Dadurch würde auch die Polarographie wieder an Bedeutung gewinnen, denn das Aufschlußverfahren würde weitgehend entfallen.
Vermutlich fällt die von BARON (2) und CLARK (8) festgestellte Abhängigkeit der Korrosionstätigkeit vom Protein bei solch geringen Mengen an Metallionen bzw. von Proteinen nicht ins Gewicht.

7.6 Ergebnisse

Die vorliegenden Ergebnisse decken sich größenordnungsmäßig größtenteils mit solchen anderer Veröffentlichungen.
MAYER und DIEHL 1976 (40), arbeiteten mit einer anderen Oberflächengröße der Prüfkörper (50 mm²) und einer größeren Menge an Lösungsmittel (20 ml). Rechnet man die Ergebnisse jedoch auf die hier verwandten Parameter um, so ergeben sich ebenfalls Quecksilberkonzentrationen von ca. 50 ng/ml bei 1 cm² Oberfläche.

WAGNER und TILL (52, 58) arbeiteten ebenfalls mit einer anderen Oberfläche des Prüfkörpers (50 mm²). Das Lösungsmittel wurde während des Versuches mehrfach gewechselt und analysiert. Nimmt man jedoch deren Ergebnisse in µg/ml aus dem Teil der Versuchsreihe, die den hier angewandten Versuchsbedingungen entspricht (neutraler pH, unbewegtes Lösungsmittel), liegen die Werte im selben Konzentrationsbereich.
Allerdings ist durch die angewandten empfindlichen Meßmethoden der Nachweis gelungen, daß auch die edlen Bestandteile des Amalgams, Silber und Quecksilber, in Lösung gehen. Deren Werte sind zwar extrem gering, offenbar stimmt aber die Vermutung nicht, daß zur Lösung dieser Stoffe ein elektrochemisches Potential durch Hinzufügen eines Goldplättchens erzeugt werden muß (52, 58). Lokalelemente, durch örtliche Inhomogenitäten hervorgerufen (15), reichen zur Lösung aller Metallionen, wenn auch zum Teil in geringsten Mengen, aus. In der vorliegenden Untersuchung wurde der Prüfkörper nur einmal einer Eluation unterzogen, im Gegensatz zu den Verhältnissen in der Mundhöhle, in der eine kontinuerliche Auslaugung durch den Speichel erfolgt. Daher sollte man mit Aussagen über die Toxizität des Werkstoffes auf Grund der vorliegenden Ergebnisse zurückhaltend sein.

8. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit sollte die Eluation von Metallionen im proteinhaltigen Medium quantitativ und qualitativ untersucht werden. Zugleich sollte überprüft werden, ob eine Abhängigkeit zur Proteinkonzentration und von der Liegedauer besteht.
Gemessen wurden die Metalle Kupfer, Zinn, Cadmium, Zink, Quecksilber und Silber. Gleichzeitig wurde das jeweils günstigste Messverfahren ermittelt.
Die Prüfkörper wurden sowohl in einem manuellen als auch in einem automatischen Probenformer (ADA-Spez. 4.3.3) hergestellt. Alle Metalle konnten in Lösung nachgewiesen werden, wobei die Kupferkonzentrationen bei Silber-Zinn Amalgamen zwischen 261 und 666 ng/ml, beim Kupferamalgam bis 12,9 µg/ml erreichten. Die Konzentrationen lagen für Quecksilber zwischen 8,1 und 59,3 ng/ml, für Zink zwischen 99 ng und 6,6 µg/ml und für Silber zwischen 0,6 und 11,3 ng/ml. Zinn lag unterhalb der Nachweisgrenze von 3 µg/ml.
Diejenigen Proben, die mit dem automatischen Probenformer hergestellt worden waren, wiesen insbesondere bei Quecksilber geringere Werte auf, als die Proben aus dem einfachen Probenformer.
Eine Abhängigkeit von der Liegedauer konnte nachgewiesen werden, wobei die Hauptaktivität in den ersten 24 Stunden stattfindet und sich nach einer Woche einem konstanten Grenzwert nähert.
Eine Abhängigkeit der Eluationsmenge zur Proteinkonzentration konnte nicht nachgewiesen werden.
Die günstigsten Meßverfahren waren für Kupfer, Zink und Zinn das Flammen-AAS, für Silber das flammenlose AAS und für Quecksilber das Kaltdampf-AAS.

9. TABELLEN

Tabelle 1: Technische Angaben über die geprüften Amalgamsorten

Amalgamsorte	Chargen-Nummer	Anmischzeit	Darreichungsform
1. Amalcap-non-Gamma-2	0281F122-312	5 sec	Kapsel F 2
2. Amalcap	221 281 E	5 sec	Kapsel F 2
3. Sybralloy	BS 0282 1309	10 sec	Kapsel F 2
4. Dispersalloy	1 F 830 + HRI8137-002840	5 sec	Kapsel F 2
5. Cupromuc	705 647	-	Tablette

Hersteller: 1 u 2. Fa. Vivadent, Schaan, Liechtenstein
3 Fa. Sybron-Kerr, 84018 Scafati, Italien
4 Johnson u. Johnson GmbH., Pf. 1580, 2000 Norderstedt
5 Merz u. Co., Chem. Fabrik, 6000 Frankfurt/M

Tabelle 2: Herleitung der Gleichung zur Errechnung der Krafteinwirkung auf den Stempel beim Handprobenformer

$$m\ g\ h = F_b\ ds$$

$$F_b = \frac{m\ g\ h}{ds}$$

m = Masse
g = const. = 9,81 m/sec²
h = Höhe
F (b) = Bremskraft
ds = Bremsweg

als Bremsweg wurde 1 mm angenommen.

Tabelle 3: Die Halbstufenpotentiale verschiedener Elemente bei Polarographie mit 1n HCl als Grundelektrolyt.
Auszug aus Metrohm Applikationsbulletin der Deutschen Metrohm, In den Birken, 7024 Filderstadt

Element	Halbstufenpotential in Volt
Antimon III	- 0,56 / - 0,76
Arsen III	- 0,37 / - 0,61
Blei	- 0,40
Cadmium	- 0,60
Chrom III	- 0,99
Chrom IV	- 1,02
Indium	- 0,56
Kupfer	- 0,19
Molybdän	- 0,07
Selen	- 0,05 / - 0,46
Thallium	- 0,45
Uran	- 0,16
Vanadium	- 1,10
Wismut	- 0,06
Wolfram	- 1,00
Zink	- 0,98
Zinn II	- 0,44
Zinn IV	- 0,45

Tabelle 4: Werte für die Berechnung der Oberflächen und der Umrechnungsfaktor auf 1 cm^2

Probennahme	Höhe cm	Durchmesser cm	Oberfläche cm^2	Umrechgs.Faktor
Amalcap	0,71	0,4	1,15	0,87
Amalcap-non-Gamma-2	0,71	0,4	1,15	0,87
Dispersalloy	0,77	0,4	1,22	0,82
Sybralloy	0,87	0,4	1,35	0,74
Cupromuc	0,25	0,6	1,05	0,95

Standardabweichung für die Mittelwerte der Höhen: 0,013

Tabelle 5: Standardabweichung und mittlerer Fehler bei den einzelnen Messungen am AAS, angegeben in mm-Peakhöhe, und in ng/ml zur Ermittlung der Meßgenauigkeit

Meßobjekt	Standard-Abweichung	Mittlerer Fehler
Silber	2,66 mm = 2,7 ng/ml	1,61 mm = 1,65 ng/ml
Quecksilber	0,85 mm = 3,8 ng/ml	0,56 mm = 3,0 ng/ml
Cadmium	3,37 mm = 3,53 ng/ml	1,19 mm = 1,25 ng/ml
Kupfer	0,93 mm = 3,3 ng/ml	0,42 mm = 1,51 ng/ml
Zink	3,03 mm = 8,78 ng/ml	1,67 mm = 4,84 ng/ml

Tabelle 6: Standardabweichung und mittlerer Fehler bei der Bildung des Mittelwertes aus den Meßergebnissen von drei gleichartigen Proben in ng/ml, zur Ermittlung der Reproduzierbarkeit der Probenherstellung.
Meßmethode wie in Text und Tabellen angegeben.

Meßobjekt	Standard-Abweichung	Mittlerer Fehler	Mittl.Varianz
Silber (ng/ml)	1,61	1,29	2,25
Quecksilber (ng/ml)	7,9	6,26	58,14
Kupfer (ng/ml)	104	78,6	796
Zink (µg/ml)	0,57	0,103	0,011

Tabelle 7: Zinkkonzentrationen in ng/ml in Abhängigkeit von der Liegedauer bei 1 cm² Oberfläche des Prüfkörpers.
Messung mit dem Flammen-AAS.

Amalgamsorte	1 Stunde	24 Stunden	1 Woche
Amalcap-non-Gamma-2	290	200	230
Amalcap	200	170	200
Sybralloy	270	240	220
Dispersalloy	6560	4510	2710
Cupromuc	99	212	124

Tabelle 8: Silberkonzentrationen in ng/ml in Abhängigkeit von der Liegedauer bei 1 cm² Oberfläche des Prüfkörpers. Messung mit dem AAS-CRA.

Amalgamsorte	1 Stunde	24 Stunden	1 Woche
Amalcap-non-Gamma-2	2,05	5,17	2,2
Amalcap	0,6	5,2	5,9
Sybralloy	1,46	1,02	0,55
Dispersalloy	7,41	5,81	2,95
Cupromuc	11,3	8,92	7,65

Tabelle 9: Kupferkonzentrationen in ng/ml in Abhängigkeit von der Liegedauer bei 1 cm² Oberfläche des Prüfkörpers. Messung mit dem Flammen-AAS.

Amalgamsorte	1 Stunde	24 Stunden	1 Woche
Amalcap-non-Gamma-2	261	290	290
Amalcap	377	290	290
Sybralloy	370	616	666
Dispersalloy	273	437	492
Cupromuc	11.698	10.545	12.903

Tabelle 10: Quecksilberkonzentrationen in ng/ml in Abhängigkeit von der Liegedauer bei 1 cm² Oberfläche des Prüfkörpers. Messung mit dem Kaltdampfverfahren.

Amalgamsorte	1 Stunde	24 Stunden	1 Woche
Amalcap-non-Gamma-2	19,5	16,6	12,6
Amalcap	36,5	40,3	31,2
Sybralloy	8,1	12,2	15,1
Dispersalloy	35,0	59,3	45,9

Tabelle 11: Zinkkonzentrationen in Abhängigkeit von der Liegedauer bei 1 cm² Oberfläche des Prüfkörpers. Herstellung mit dem Handprobenformer.
Messung mit dem AAS-CRA.

Amalgamsorte	1 Stunde	24 Stunden	1 Woche
Amalcap-non-Gamma-2	350 ng/ml	383 ng/ml	244 ng/ml
Amalcap	83 ng/ml	421 ng/ml	315 ng/ml
Sybralloy	183 ng/ml	562 ng/ml	385 ng/ml
Dispersalloy*	1547 ng/ml	899 ng/ml	1084 ng/ml
Cupromuc	241 ng/ml	608 ng/ml	481 ng/ml

*) Carge HR1 8137 - 002840 Herst. 1977

Tabelle 12: Kupferkonzentrationen in Abhängigkeit von der Liegedauer bei 1 cm² Oberfläche des Prüfkörpers. Herstellung mit dem Handprobenformer.
Messung mit dem AAS-CRA.

Amalgamsorte	1 Stunde	24 Stunden	1 Woche
Amalcap-non-Gamma-2	439 ng/ml	718 ng/ml	849 ng/ml
Amalcap	286 ng/ml	443 ng/ml	410 ng/ml
Sybralloy	474 ng/ml	755 ng/ml	927 ng/ml
Dispersalloy	66 ng/ml	145 ng/ml	178 ng/ml
Cupromuc	12777 ng/ml	9415 ng/ml	12509 ng/ml

Tabelle 13: Ergebnisse aus den Stichproben mit dem Polarographen

	Kupfer	Zinn
Amalcap-non-Gamma-2		
Liegezeit 1 Stunde:	303 ng/ml	674 ng/ml
Amalcap		
Liegezeit 1 Stunde:	257 ng/ml	543 ng/ml
Sybralloy		
Liegezeit 1 Woche:	1,04 ug/ml	1,72 ug/ml

Tabelle 14: Vergleichende Gegenüberstellung der Meßwerte bei unterschiedlichen Serumkonzentrationen in ng/ml.
Auszug aus einer Versuchsreihe (Amalcap).
Meßmethoden wie im Text beschrieben.

Metallion	Serum 5%	Serum 10%	Serum 20%
Hg	21,6	17,0	28,6
	21,0	17,6	18,6
	14,0	13,8	15,6
AG	6,0	6,75	6,0
	9,2	14,0	14,0
	13,5	13,0	13,5
Zn	50	50	50
	100	100	200
	200	100	100
Cu	450	350	200
	350	150	200
	150	350	200
Hg	48,0	40,2	37,6
	30,0	26,8	32,0
	27,6	34,6	31,0

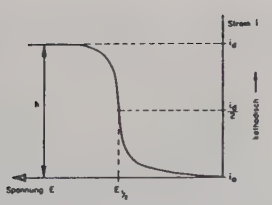

Abb. 1a: Typisches Gleichstrompolarogramm

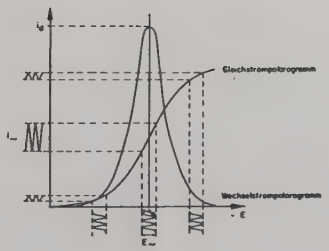

Abb. 1b: Unterschied Wechselstrom- und Gleichstrompolarogramm

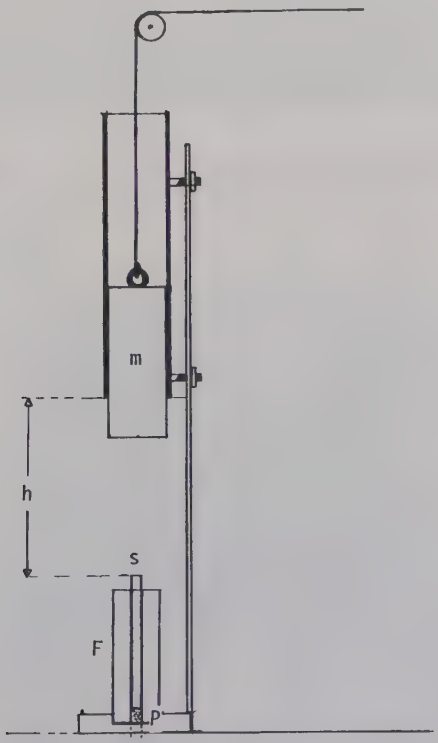

Abb. 2: Probenformer zur Herstellung von Amalgamproben im Handbetrieb. m = Gewicht, h = Fallhöhe, S = Stempel, P = Am.Probe, F = Probenform

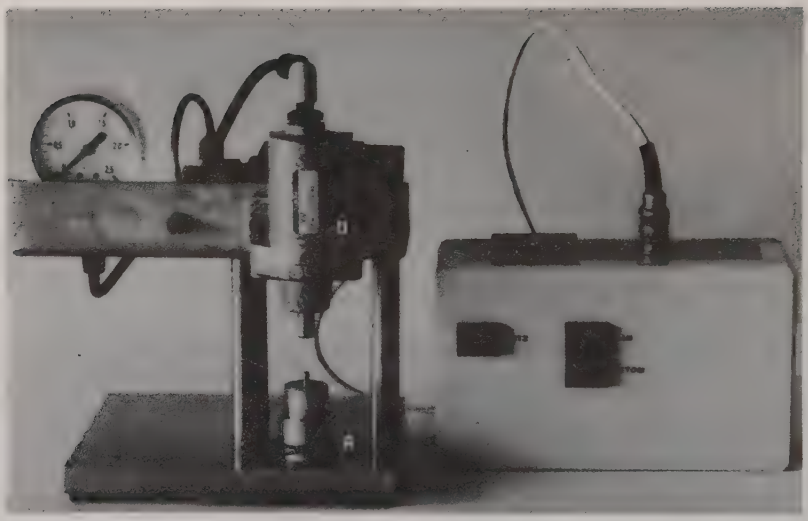

Abb. 3: Automatischer Probenformer
(A) Probenform, (B) Druckmechanik

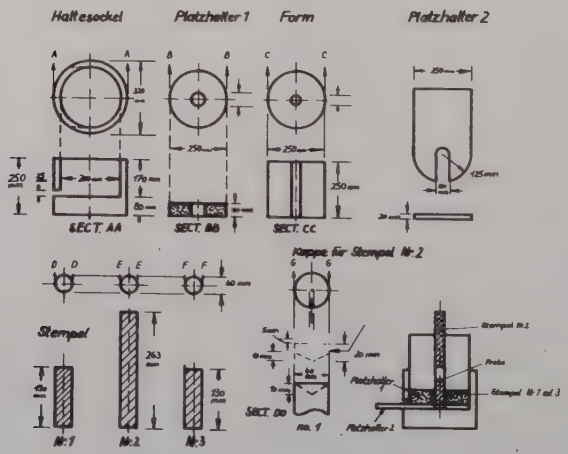

Abb. 4: Zeichnung der Probenform (A) aus Abb. 3

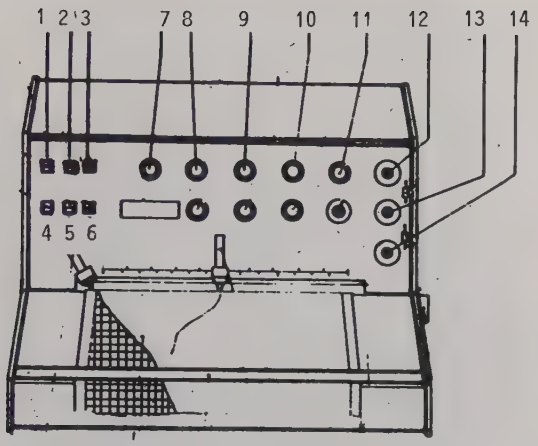

Abb. 5: Polarograph mit Bedienungselementen. Erläuterungen siehe S.21

Abb. 6: Polarograph Polarecord E 506 mit eingebauten Schreiber, darüber pH-Meter E 510

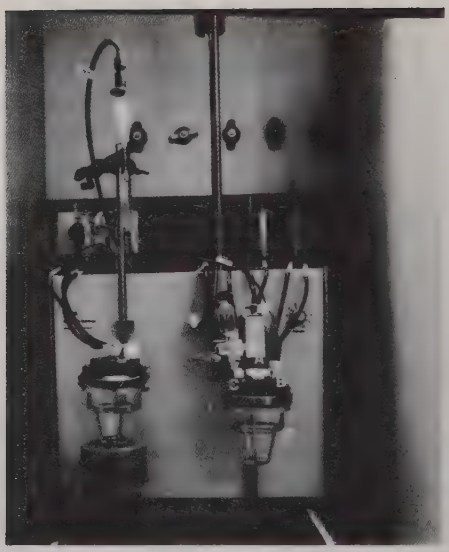

Abb. 7: Polarographierstand E 505 mit der Arbeitselektrode (A), Hilfselektrode (B), Referenzelektrode (C) und dem Probengefäß (D)

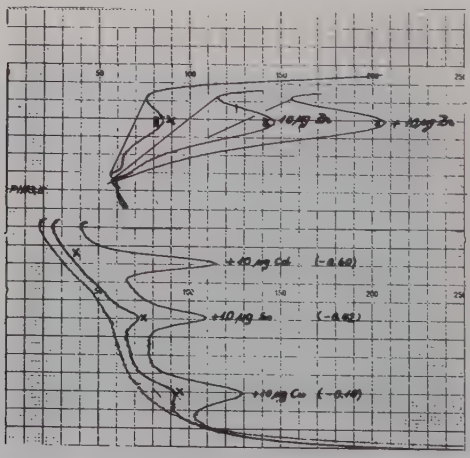

Abb. 8: Typisches Polarogramm mit Grundkurve des reinen Elektrolyten, dann nach Zugabe der Probenlösung und nach der Aufstockung mit definierten Mengen.

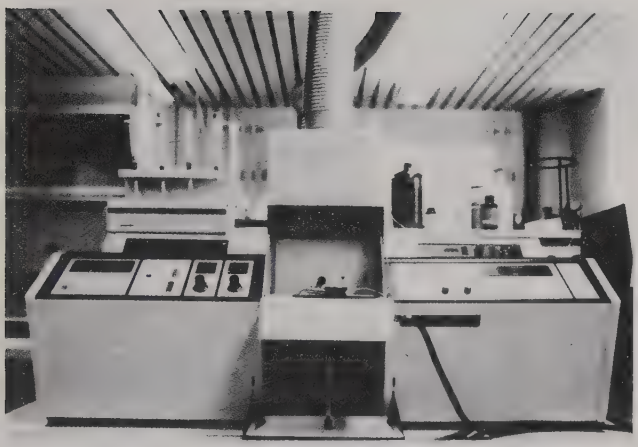

Abb. 9: Flammenloses AAS. Gesamtansicht. In der Mitte der Strahlengang mit dem CRA.

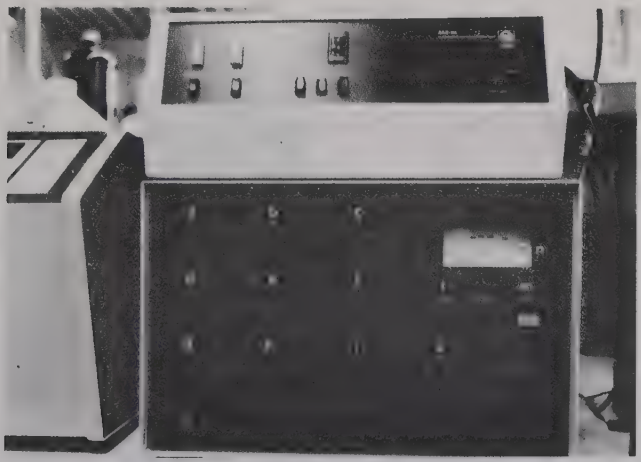

Abb. 10: Steuergerät CRA-90 zum flammenlosen AAS mit den Einstellschaltern für die Arbeitsgänge: (a) Trocknen, (b) veraschen, (c) atomisieren und den dazugehörigen Einstellungen für Temperatur (b, e, h) und Zeit (c, f, i). Temperaturanzeige (n). Schalter für Programmstart (m).

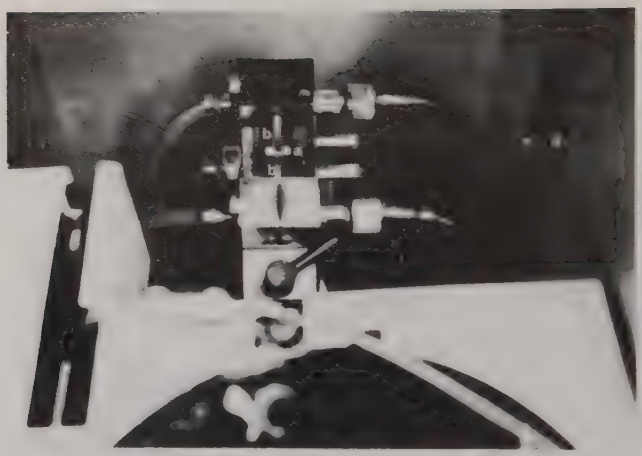

Abb. 11: CRA-Graphitrohrküvette (a) mit Graphitelektroden (b) im Kühlsystem. (c) Feststellschraube, (d) Eingangsfenster zum Photomultiplier.

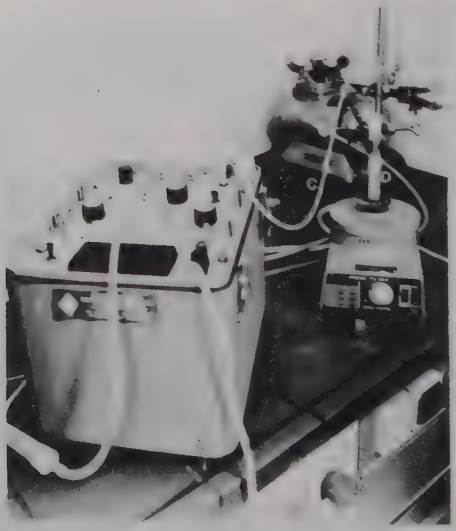

Abb. 12: Versuchsaufbau für die Quecksilber-Messung
(A) Quecksilber-AAS, (B) Rüttler, (C) Verbindungsschlauch zum AAS mit Trockenfilter, (D) Reagenzglas mit der Probe (s.Abb.14). Im Hintergrund die externe Pumpe.

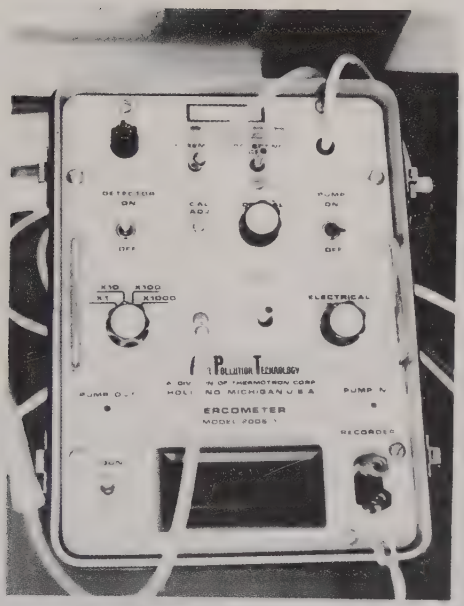

Abb. 13: Quecksilber-AAS. Gesamtansicht Bedienungselemente

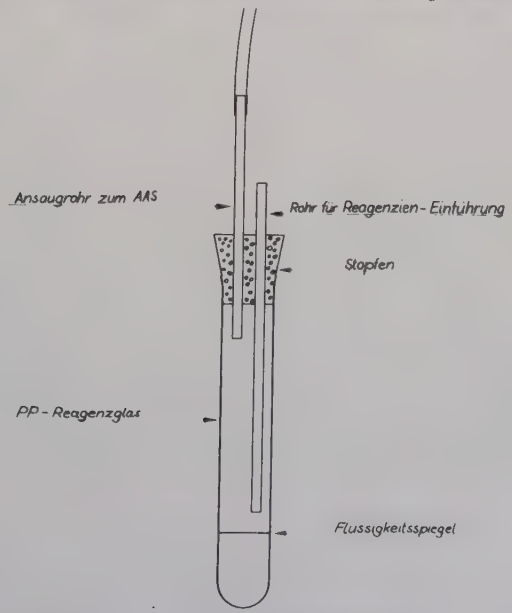

Abb. 14: Reagenzglas für die Quecksilber-Messung.

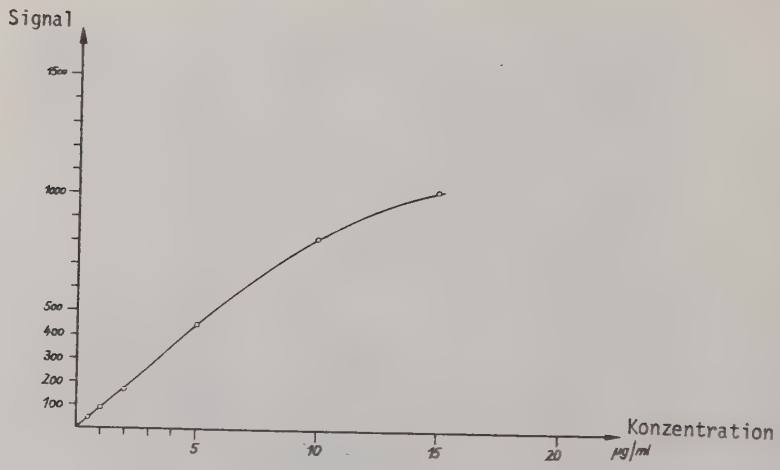

Abb.15a: Eichkurve Cu für Flammen-AAS

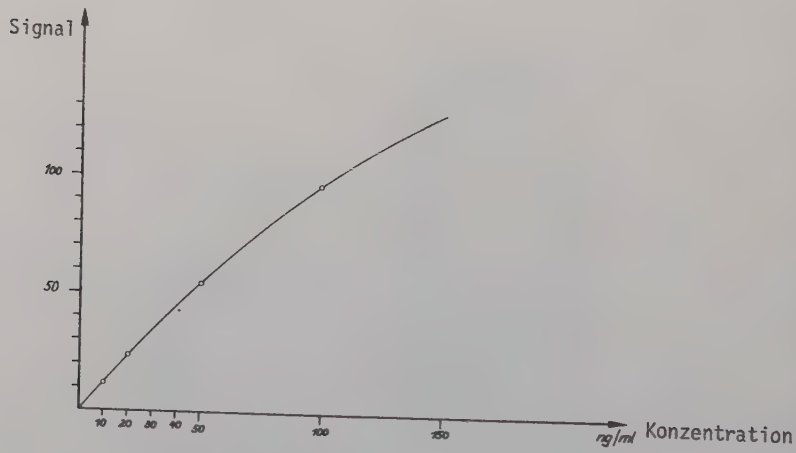

Abb. 15b: Eichkurve Hg des Kaltdampf-AAS

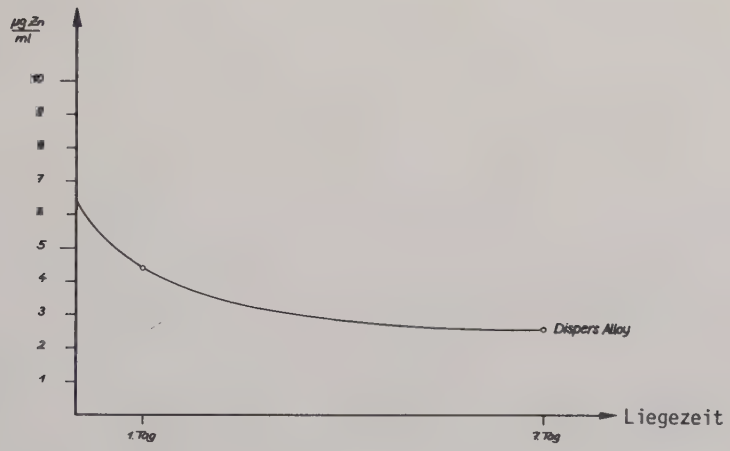

Abb. 16: Kurvenverlauf Zink-Abgabe in Abhängigkeit von der Liegezeit vor der Eluation

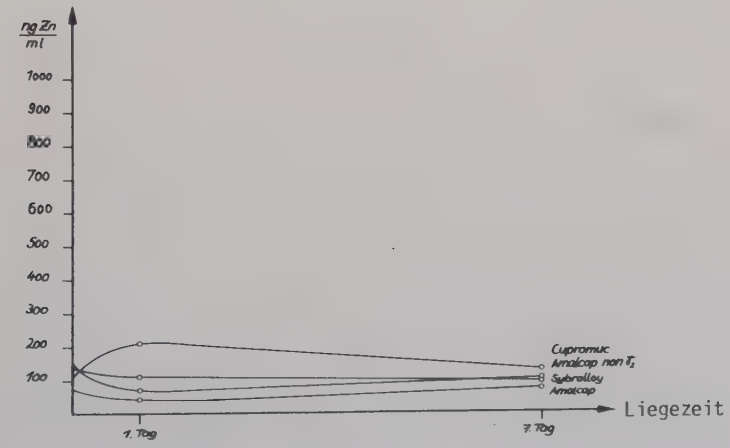

Abb. 16: Kurvenverlauf Zink-Abgabe in Abhängigkeit von der Liegezeit vor der Eluation

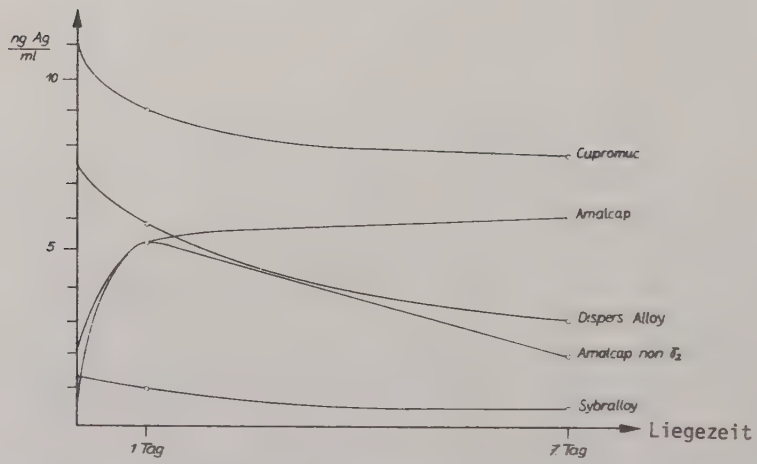

Abb. 17: Kurvenverlauf Silber-Abgabe in Abhängigkeit von der Liegezeit vor der Eluation

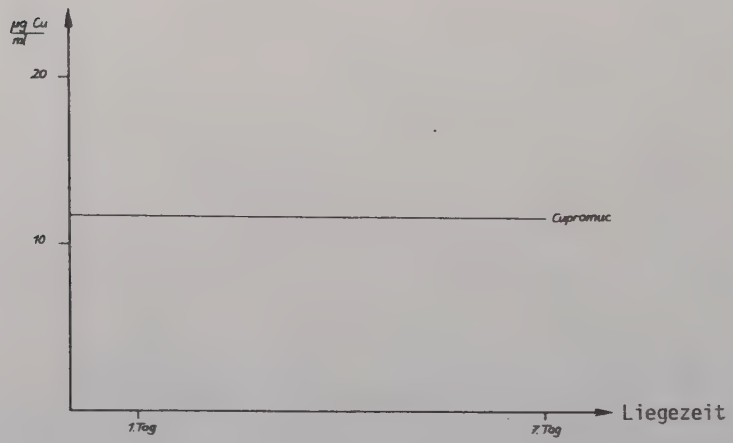

Abb. 18: Kurvenverlauf Kupfer-Abgabe in Abhängigkeit von der Liegezeit vor der Eluation

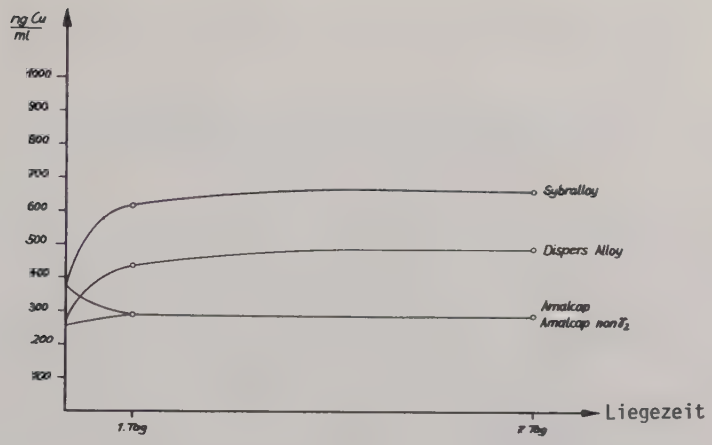

Abb. 18: Kurvenverlauf Kupfer-Abgabe in Abhängigkeit von der Liegezeit vor der Eluation

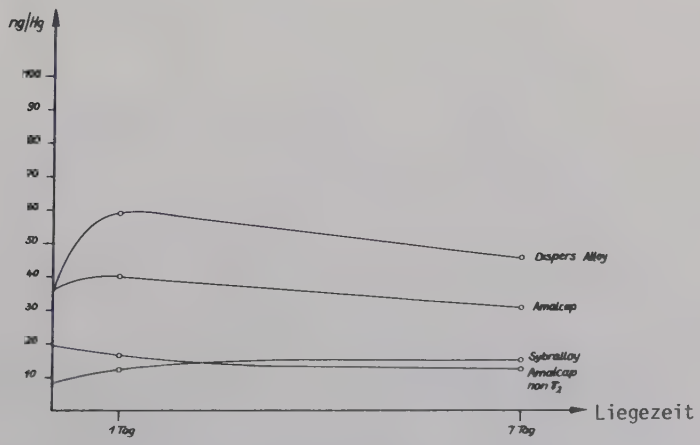

Abb. 19: Kurvenverlauf Quecksilber-Abgabe in Abhängigkeit von der Liegezeit vor der Eluation

10. LITERATURVERZEICHNIS

1) BABENDERERDE,E, HELD,M. und UNTERSPANN,S.
Untersuchungen zur Diffusion des Quecksilbers aus Silber-Zinn-Amalgam-Füllungen mittels Hg 203.
Dtsch.Stomat. 20, 343, (1970)

2) BARON,C.E., MARSCHOFF,C.M. and ARAGON,P.J.
Corrosion rates of dental amalgam in ringer solutions and artificial saliva.
TIT.J.Life Sci. (Philadelphia) 8, 105, (1978)

3) BÜNIG,I.
Die Quecksilberabgabe aus Amalgam-Füllungen.
Dtsch.zahnärztl.Z. 16, 864, (1961)

4) BUNSEN,R.W. und KIRCHHOFF,G.R.
Polarographie
Phil.Mag. (4) 22, 329, (1861)

5) CASTAGNOLA,L. und WIRZ,J.
Anwendungsbereiche der Silberamalgame und Composite-Materialien für Klasse-II-Füllungen.
Zahnärztliche Prax. 28, 496, (1977)

6) CHRIST,M. und RIETHE,P.
Ober die Auswirkungen verschiedener Stopfdrucke und Stopftechniken auf die Druckfestigkeit, den Quecksilbergehalt und die Porosität von Amalgam-Prüfkörpern.
Dtsch.zahnärztl.Z. 27, 725-32, (1972)

7) CHRISTEN,H.R.
Grundlagen der allgemeinen und anorganischen Chemie.
Sauerländer Salle, Aarau-Frankfurt 345-415 (1973)

8) CLARK,G. and WILLIAMS,D.F.
The effect of proteins of metallic corrosion.
J.Biomed.Mat.Res. 16, 125, (1982)

9) DARVELL,B.W.
Preparation of uniform cylindrical amalgam test pieces.
Aust.dent.J. 24, 37-38, (1979)

10) DARVELL,B.W.
The corrosion of silver amalgam. A photometric method.
J.Dent. 1, 255-60, (1973)

11) DERMANN,K.
Die neuen Amalgame.
Dtsch. Zahnärztekalender, 39, 85-96, (1980)
Carl Hanser, München

12) DREYER-JÜRGENSEN K.
Amalgame in der Zahnheilkunde.
Carl Hanser, München 83-88 (1977)

13) DREYER-JÜRGENSEN, K.
Neue Entwicklungen bei Legierungen für zahnärztliche Amalgame; ihre Eigenschaften und richtige Verwendung.
Quintess.zahnärztl.Lit. 29, Ref. 5765 (1978)

14) EICHNER,K.
Zahnärztliche Werkstoffe und ihre Verarbeitung.
Band 1: Grundlagen und Verarbeitung.
Hüthig, Heidelberg 43-45, 61-63 (1981)

15) FRYKHOLM,K.O.
Mercury from dental Amalgam, its toxic and allergic effects.
Acta odont.scand. 15, 22, (1957)

16) GARNER,C.K.
A study of oxidation of dental amalgam with age.
J.Dent.Res. 56, 1489-91 (1977)

17) GASSER,F.
Neue Untersuchungsergebnisse über Amalgam.
Quintess,zahnärztl.Lit. 12, Ref. 5543 (1976)

18) HATCH, W.R. and OTT,W.L.
Determination of submicrogram quantitys of mercury by atc absorption-spectrophotometry.
Anal.Chem. 40, 2085-2087 (1968)

19) HENGST,M.
Einführung in die mathematische Statistik.
Bibliographisches Institut Mannheim-Wien-Zürich
60, 97, 100 (1967)

20) HEYROWSKY,J.
Grundlagen der Polarographie.
Akademie Verlag Berlin (1965)20 f.

21) HOOVER,A.W.
Absorption and excretion of mercury in man. Dental amalg as a source of urinary mercury.
Arch.Environ Health (Chicago) 12, 506, (1966)

22) JENSEN,S.J., ANDERSEN,P., OLSEN,K.B. and UTOFT,L.
On the solubility of zinc in the gamma-phase of the sil- mercury system.
Scand,J.Dent.Res. 70 (1976)

23) KENDALL,T.A., SOHL,G.H. and MATEER,R.S.
Analytic procedures for determination of silver, tin, mercury, copper and zinc in dental amalgams.
J.Dent.Res. 50, 378, (1971)

24) KIRCHOFF,G.
Atomabsorptionsspektrophotometrie Grundlagen.
Pogg.analen 109, 275, (1860)
Phil.Mag. 4, 20, (1860)

25) KLÖTZER,W.T.
Vergleichende werkstoffkundliche Untersuchungen von Kugelamalgamen und von konventionellen Splitteramalgamen.
Dtsch.zahnärztl.Z. 23, 1438, (1968)

26) KORTÜM,G.
Kolorimetrie, Photometrie und Spektrometrie.
Springer, Berlin 54f (1962)

27) KRÖNCKE,A., OTT,K., PETSCHELT,A., SCHALLER,K.H., SZECSI,M. und VALENTIN,H.
Quecksilber-Konzentrationen in Blut und Urin von Personen mit und ohne Amalgamfüllungen.
Dtsch.zahnärztl.Z. 35, 803 (1980

28) KROPP,R.
Neue Untersuchungsergebnisse über Amalgam. - Diskussionsbeitrag zur Originalarbeit von F.Gasser, Heft.12/1976
Referat 5543.
Quintess.zahnärztl.Lit. 28, 55-6 (1977)

29) KROPP,R.
Amalgam in Theorie und Praxis.
Zahnärztl.Prax. 24, 511, (1973)

30) KROPP,R.
Die non-gamma-2-Amalgame. Ein wichtiger Fortschritt zur Verbesserung des Korrosionsverhaltens von Amalgamfüllungen.
Degussa Brief 45 (1979)

31) KÜHL,W.
Die Quecksilberdampfabgabe von Amalgamfüllungen.
Dtsch.zahnärztl.Z. 21, 496, (1966)

32) LEIRSKAR,J.
On the mechanism of cytotoxity of silver and copper amalgams in a cell culture system.
Scand.J.Dent.Res. 82, 74-80 (1974)

33) LINDEMANN,A.
Bestimmung von Metallspuren durch Anodic-Stripping,Voltametrie.
Labor Praxis 14-16 Okt. 1979

34) LUKAS,D.
Strom- und Spannungsmessungen an extrahierten Zähnen mit Metallfüllungen.
Dtsch.zahnärztl.Z. 31, 196, (1976)

35) LUKAS,D. und DREHER,H.J.
Ströme und Spannungen in der menschlichen Mundhöhle.
Quintess.zahnärztl.Lit. 28, 147, (1977)

36) MAHLER,D.B.
Quantitative microprobe analysis of amalgam.
J.Dent.Res. 54, 218, (1975)

37) MARXKORS,R.
Korrosionserscheinungen an Amalgamfüllungen und deren Auswirkung auf den menschlichen Organismus.
Dtsch.Zahnärztebl. 24, 53, 117, 170, (1970)

38) MARXKORS,R.
Elektrochemische Vorgänge an metallischen Fremdstoffen in der Mundhöhle.
Dtsch.Zahnärztebl. 19, 228, (1965)

39) MAYER,R.
Zur Toxizität von Quecksilber und/oder Amalgam.
Dtsch.Zahnärztl.Z. 35, 450, (1980)

40) MAYER,R. und DIEHL,W.
Abgabe von Quecksilber aus Amalgamfüllungen an den Speichel.
Dtsch.Zahnärztl.Z. 31, 855, (1976)

41) METROHM, DEUTSCHE
Bedienungs-Manual für Polarecord E 506
Deutsche Metrohm, Filderstadt-Plattenhardt 101f. (1979)

42) NEEB,R.
Polarographische Analysenverfahren.
Labo.Kennzifferzeitschrift f. Labortechnik, 10, 16 (1974)

43) ONOSE,H., ANDO,S., NOMOTO,S. and SUZUKI,K.
Corrosion of dental amalgam in culture media.
J.Dent.Res. 56, 1336, (1977)

44) OYAMA,H.
The study on solubization of mercury from set Amalgam in various solution.
Aichi Gaikuin J.Dent.Sci, 49, 227, (1977)

45) RAMIREZ,J. and MUNOZ,B.
Atomic Absorption Spectroscopie and analysis by Atomic Absorption Flame Photometrie.
Elsevier Publishing Col, Amsterdam-London-New York 1968

46) RADICS,H., SCHWANDER,H. und GASSER,F.
Die kristallinen Komponenten der Silberamalgame. Untersuchungen mit der elektronischen Röntgenmikrosonde.
Zahnärztl.Welt 79, 1031, (1970)

47) REYNOLDS,C.L. jr. and BAKER,R.
Diffusion of mercury in dental amalgams.
J.Biomed.Mater.Res. 9, 253, (1975)

48) RUPP,N.W., PAFFENBARGER,G.C. and PATEL,P.R.
Effext of mercury content on creep in Amalgams.
J.Am.Dent.Assoc. 4, 53, (1980)

49) SCHMIDT,W.
Die Praxis der Atomabsorptionsspektralphotometrie.
Beckmann Instruments GmbH., München-Zürich 1976

50) SCHLESIGER,K.
Flammenlose Atomabsorptionsspektrographische Untersuchungen über die Abgabe von Quecksilber aus neueren Legierungen von Kupfer- und Silberzinnamalgamfüllungen in Flüssigkeiten.
Med.Diss. Tübingen 1978

51) SCHNEIDER,V.
Untersuchungen zur Quecksilberabgabe aus Silberamalgam-Füllungen mit Hilfe flammenloser Atomabsorption.
Dtsch.zahnärztl.Z. 32, 475-6 (1977)

52) TILL,T. und WAGNER,G.
Untersuchungen zur Löslichkeit der Bestandteile von Amalgamfüllungen während des Kau- und Trinkaktes. Teil 1.
Zahnärztl.Welt 82, 945, (1973)

53) TODOROV,I. and ALEXIEV,A.
Correlation between Corrosionspotential of Silver Amalgam Fillings and Concentration of silver ions in saliva.
Stromatologiia (Sofia) 55, 117, (1973)

54) TSCHÖPEL,P., KOTZ,L., SCHULZ,W., VEBER,M. und TÖLG,G.
Zur Ursache und Vermeidung systematischer Fehler bei Elementbestimmungen in wässrigen Lösungen im ng/ml und pg/ml-Bereich.
Fresenius Z.Anal.Chem. 302, 1-14,(1980)

55) VASQUEZ,R.
Analisis quimico quantitativo de plata y recuperation de mercurio y plata en emalgames fraguadas.
Rev.Dent.Chile 55, 325, (1965)

56) VIALA,A., GILLES,G., SAUVE,J.M. et ALIBERT,J.P.
A propos de l'influence des amalgames dentaires sur les taux de mercure et d'argent dans les liquides biologiques et les chevaux.
Toxicol.Eur.Res. 1, 47, (1979)

57) VRIJOHOEF,M.
Dental Amalgam.
Quintessence publishing Co., Chicago-Berlin-Rio de Janeiro-Tokyo 19-31, 54, 71 (1980)

58) WAGNER,E.
Beitrag zur Klärung des Korrosionsverhaltens der Silber-Zinn-Amalgame.
Dtsch.zahnärztl.Z. 17, 99, (1962)

59) WAGNER,G. und TILL,T.
Untersuchungen zur Löslichkeit der Bestandteile von Amalgamfüllungen während des Kau- und Trinkaktes. Teil 2.
Zahnärztl.Welt 82, 1004, (1973)

60) WANG CHEN, C.P. and GREENER,E.H.
A galvanic study of different amalgams.
J.Oral.Rehabil. 1, 23, (1977)

61) WELZ,B.
Atomabsorptionsspektroskopie im klinisch-chemischen Labor.
Biotechn.Umschau 9, 272, (1977)

Am 15. April 1951 wurde ich, Harald Barth, als Sohn des Dipl.Ing. Gerhard Barth und seiner Frau Helga in Reutlingen geboren.
Von 1958 bis 1962 besuchte ich die Volksschule, danach das Joh.Kepler Gymnasium in Reutlingen, wo ich im Juni 1970 das Abitur ablegte.
Nach dem Wehrdienst 1970 - 1972 folgte die Ausbildung zum Einzelhandelskaufmann im elterlichen Betrieb, die im Juni 1976 abgeschlossen war.
Im WS 1976/77 erhielt ich die Zulassung zum Studium der Zahnheilkunde in Tübingen. Nach 2 Semestern legte ich die naturwissenschaftliche, nach weiteren 3 Semestern die zahnärztliche Vorprüfung und am 17. Dezember 1981 das Staatsexamen ab.
Seit Mai 1982 bin ich in der freien Praxis als Assistent tätig.

DANKSAGUNG

Für die Übernahme und Korrektur meiner Dissertation danke ich meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Gottfried Schmalz.

Für die Anleitung, Unterstützung und Mithilfe im chemischen Teil bedanke ich mich bei den Mitarbeitern der chem. Abteilung des Institutes für Arbeit und Sozialmedizin der Universität Tübingen unter Leitung von Herrn Dr. Schoknecht, sowie bei der Firma ACL-Chemie in Tübingen-Pfrondorf.

Ebenso gilt mein Dank den wissenschaftlichen Mitarbeitern der Firma Metrohm in Filderstadt, Varian in Karlsruhe sowie Herrn Prof. Rehberg (Fa. Bayer-Leverkusen).

Herrn Renner vom technischen Personal der Universität gilt mein Dank für die Herstellung von Pressformen. Für die Erstellung von Schaubildern bedanke ich mich bei der Firma Deuschle Graphik in Reutlingen.